

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
Departamento de Genética



TESIS DOCTORAL

**La variación en el grado de desinapsis producida por
consanguinidad en el centeno (*Secale Cereale* L.)**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

Isabel Álamo Antúnez

Madrid, 2015

Isabel Alamo Antúnez

TP
1982
7-10



x-02-01854-0

LA VARIACION EN EL GRADO DE DESINAPSIS PRODUCIDA
POR CONSANGUINIDAD EN EL CENTENO (SECALE CEREALE, L.)

Departamento de Genética
Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad Complutense de Madrid
1982



BIBLIOTECA

Colección Tesis Doctorales. Nº 110/82

© Isabel Alamo Antúnez
Edita e imprime la Editorial de la Universidad
Complutense de Madrid. Servicio de Reprografía
Noviciado, 3 Madrid-8
Madrid, 1981
Xerox 9200 XB 480
Depósito Legal: M-6251-1982

Autor : ISABEL ALAMO ANTUNEZ

LA VARIACION EN EL GRADO DE DESINAPSIS PRODUCIDA POR CONSANGUINIDAD EN

EL CENTENO (Secale cereale, L.)

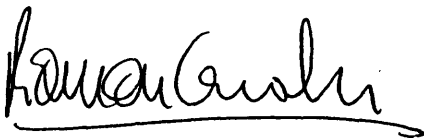
Director : Dr. RAMON L. GIRALDEZ CEBALLOS-ESCALERA

Profesor Adjunto del Departamento de Genética

Universidad Complutense de Madrid
Facultad de Biología
Departamento de Genética

1.979

Vº Bº
El Director de la tesis



Fdo.: Ramón L. Giráldez
Ceballos-Escalera

Trabajo presentado para optar al grado de
Doctor en CIENCIAS BIOLÓGICAS por la Uni-
versidad Complutense de Madrid por:

Isabel Alamo Antón

III

Esta tesis ha sido dirigida por el Profesor Dr. Ramón L. Giráldez Ceballos-Escalera, a quien deseo expresar mi agradecimiento por su valiosa ayuda y guía durante las distintas etapas en que se ha desarrollado este trabajo.

Mi agradecimiento también al Profesor Dr. J. R. Lacadena por su constante interés y docencia y por su confianza en las posibilidades de este trabajo.

Además agradezco a mis compañeros del Departamento de Genética las ayudas recibidas, especialmente a la Dra. Esther Ferrer, Dra. Concepción Romero y a Pilar Arana, María del Carmen Cerneno, e Isabel Parra, por la inestimable colaboración - prestada en la ingrata labor del ultimar los detalles de presentación de esta tesis.

A todo aquel que quiere y no puede investigar.

I N D I C E

INTRODUCCION	1
1. Apareamiento cromosómico y formación de quiasmas	1
2. Frecuencia y distribución de quiasmas	5
2.1. Variación en la formación de quiasmas entre zonas de un bivalente	6
2.1.1. Localización	6
2.1.2. Interferencia cromosómica	11
2.2. Variación en la formación de quiasmas entre bivalentes	14
2.3. Variación en la formación de quiasmas entre células del mismo individuo	16
2.3.1. Interferencia intercromosómica	17
2.3.2. Variación entre grupos de células de un mismo individuo	20
3. Terminalización	20
4. Errores en formación de quiasmas	23
OBJETO DE LA TESIS	25
MATERIAL Y METODOS	26

1. Técnicas citológicas	26
1.1. Tinción convencional	26
1.2. Técnica de bandeado - C	27
2. Estimación del momento de la Metafase I	28
3. Estimación del número de quiasmas	29
RESULTADOS	30
1. Niveles de variación en la asincronía celular	30
2. Terminalización	31
3. Frecuencia de quiasmas en los distintos pares de brazos cromosómicos reconocibles	35
4. Interferencia	36
4.1. Interferencia a través del centrómero	36
4.2. Interferencia intercromosómica	40
5. Puentes y fragmentos en Anafase I	41
6. Cuadros	44
7. Figuras	69
8. Láminas	83

DISCUSION	89
1. Niveles de variación en la asincronía celular	89
2. Terminalización	89
3. Frecuencia de quiasmas en los distintos pares de brazos cromosómicos reconocibles	93
4. Interferencia	95
4.1. Interferencia a través del centrómero	95
4.2. Interferencia intercromosómica	101
5. Puentes y fragmentos en Anafase I	102
RESUMEN Y CONCLUSIONES	106
BIBLIOGRAFIA	108.

INTRODUCCION

En los eucariontes superiores, la recombinación entre genes situados en el mismo cromosoma se produce en la meiosis gracias a los fenómenos del apareamiento y el sobrecruzamiento.

En materiales apropiados, el análisis citológico de los aspectos - - cuantitativos del sobrecruzamiento (frecuencia y distribución de quiasmas) puede llevarse a cabo de forma directa. Sin embargo, en otros casos, las observaciones podrían estar condicionadas por las modificaciones sufridas desde el momento en - que se produce el sobrecruzamiento hasta el momento de su observación. La terminación, definida por Darlington en 1931 como el movimiento de los quiasmas hacia los extremos de los cromosomas, podría ser la causa principal de dichas modificaciones. Esto hace que en el estudio de la frecuencia y distribución de quiasmas deba tenerse en cuenta no solo el fenómeno del sobrecruzamiento en sí mismo, sino también el fenómeno de la terminalización.

1. APAREAMIENTO CROMOSOMICO Y FORMACION DE QUIASMAS.

Se entiende por apareamiento cromosómico la asociación íntima, lado a lado, de los cromosomas homólogos que tiene lugar durante la Profase meiótica y que se puede visualizar citológicamente desde la Cigotena.

Los mutantes que presentan fallo en el apareamiento se llaman asináp-
ticos, para distinguirlos de los desináp-
ticos, en los que falla la formación -
de quiasmas o hay una terminalización más rápida de éstos.

En general el estudio del apareamiento al microscopio óptico no puede hacerse más que de un modo indirecto, en fases en las que los pares de homólogos se mantienen asociados solo por los quiasmas.

A nivel de microscopía electrónica se aprecia la formación de complejos sinaptinémicos durante la Cigotena, estructuras tripartitas que no aparecen completas hasta la Paquitena y que se desorganizan en Diplotena. Por tanto, en fases posteriores a éstas, los responsables de mantener asociados los homólogos serían los quiasmas, al menos en líneas generales (ver rev. John 1976).

Esta estructura, descrita por primera vez por Moses y Fawcett de modo independiente en 1956, se considera no solo esencial para el mantenimiento de la sinapsis, sino también condición necesaria aunque no suficiente para la formación de quiasmas (Roth y Parchman 1971). No obstante Grell et al (1972) han demostrado en Drosophila la existencia de sobrecruzamiento en ausencia aparente de complejos sinaptinémicos. En diversos organismos se ha descrito la existencia de unos componentes modulares en la región central del complejo sinaptinémico, cuya correspondencia en tiempo, número y/o posición con el sobrecruzamiento, ha sido señalada por primera vez por Carpenter (1975) y con posterioridad por numerosos autores, entre otros: Zickler (1977), Bogdanov (1977), Moses et al (1977) y Gillies (1979).

Antes de que se establezca el apareamiento con la formación del complejo sinaptinémico, es necesario explicar por qué mecanismo se coloca cada cromosoma en su sitio específico, de manera que la formación de complejo sinaptinémico ocurre sólo entre homólogos y cómo el entrelazamiento de bivalentes es poco frecuente. Moens (1973) pudo detectar un patrón especial en las posiciones

de enganche sobre la membrana nuclear de los extremos de los elementos laterales en Locusta, y que estos sitios de enganche se mueven durante la sinapsis. Sin embargo, la membrana nuclear no puede ser el único condicionante, ya que la iniciación de la formación de complejo sinaptinémico no está confinada a la periferia del núcleo (Moens 1968, 1969, ver rev. Maguire 1977). Bennett, Stern y Woodward (1974) han detectado material fibrilar semejante a microtúbulos en núcleos de trigo, que tal vez enganchen entre sí los homólogos, en sitios específicos distribuidos a lo largo de los cromosomas, antes de conseguirse la sinapsis y la formación de complejos sinaptinémicos (ver rev. de Maguire 1977).

A nivel bioquímico, aunque solo se ha podido estudiar en pocos organismos, cabe destacar la relación del apareamiento homólogo "efectivo" (el que puede conducir a formación de quiasmas) en Lilium, con la existencia de asociación entre la lipoproteína de la membrana nuclear, la proteína R que pertenece a dicho complejo lipoproteínico y el z - ADN, durante la Cigotena (ver rev. Stern y Hotta 1978). Esta asociación es imprescindible para que haya sinapsis, como se ha demostrado si se interfiere solo la asociación de estos tres elementos (Hotta y Shepard 1975) o si se inhibe la síntesis de z - ADN (Ito, Hotta y Stern 1967).

La proteína R o proteína de reasociación es capaz de catalizar la reasociación de cadenas simples de ADN. El factor crítico para la formación o activación de la proteína R y de la lipoproteína nuclear, que comienza en Leptotena y se detiene justo antes o coincidentemente con el proceso de estabilización del apareamiento, parece ser la interacción entre homólogos en fases anteriores a la Cigotena. Por ello en los híbridos aquíasmáticos Black Beauty de Lilium se considera que la ausencia de homología suficiente en la causa de una formación muy disminuida de estos componentes proteicos.

El z - ADN que se sintetiza durante la Cigotena es un conjunto de secuencias únicas, de una longitud de 10^4 pares de bases (Hotta y Stern 1975) con un alto contenido en G C y dispuestas en el ADN cromosómico de modo disperso. Corresponde a la replicación tardía del 0, 1 a 0,3% del ADN que quedó sin replicar durante la fase S premeiótica, a pesar de la duración más larga de esta fase, fenómeno que parece determinar de modo irreversible la entrada en meiosis.

En cambio el p - ADN sintetizado durante la Paquitena representa una síntesis de reparación, no es de naturaleza semiconservativa, teniendo su localización en secuencias moderadamente repetidas. También durante esta fase se detecta actividad endonucleasa. En el complejo de lipoproteína de membrana nuclear aparece además otro tipo de proteína, la proteína U, capaz de desnaturar el ADN de doble banda a ADN de cadena sencilla. A diferencia de la proteína R, ambas actividades, endonucleasa y proteína U se encuentran tanto en híbridos aquíasmáticos como quiasmáticos, aunque no actúan si antes no ha habido un apareamiento efectivo.

Riley y Bennett (1971) han encontrado evidencia en trigo, de síntesis de ADN en estadios avanzados de la meiosis. Esta síntesis podría estar relacionada con la soldadura tardía de las interrupciones que limitan las secuencias del z - ADN en Cigotena.

Si bien los quiasmas no pueden ser visualizados hasta Diplotena, se acepta que su formación tiene lugar entre Cigotena y Paquitena, ya que ésta no puede afectarse más tarde con el uso de diversos agentes (Henderson 1970).

Aunque los modelos moleculares mas completos sobre el mecanismo inti-

mo de la formación de quiasmas son los de Whitehouse (1963, 1965) y Holliday - (1964, 1974, 1977), los cuales intentan explicar el fenómeno de la conversión génica, nos parece más interesante detallar el modelo de Stern y Hotta (1978) porque utilizan los conocimientos bioquímicos que se tienen sobre las fases - meióticas relacionadas con este fenómeno. Este modelo supone una reducción progresiva con el desarrollo meiótico del número de posibilidades de ocurrencia de sobrecruzamiento. En primer lugar actúa la endonucleasa sobre el ADN de doble banda pero rompería solo una de las dos cadenas. Probablemente se necesita después actividad fosfatasa que deje libre el extremo 3' hidroxilo, aunque no se ha detectado ninguna fosfatasa específica de meiosis. La mayoría de estos extremos reaccionarán con el complejo de reparación, pero algunos lo harán con la proteína U.

Puesto que la proteína U no impide la actividad de la ADN polimerasa muchos de estos últimos pueden ser reparados todavía pero a algunos se asociará la proteína R, pudiendo ocurrir así una reasociación cruzada, y posteriormente se completará el proceso con la actuación de las enzimas implicadas en la recombinación.

2.- FRECUENCIA Y DISTRIBUCION DE QUIASMAS

La variación de la frecuencia de quiasmas dentro de un individuo puede considerarse dividida en tres niveles distintos: a) entre zonas de un bivalente b) entre distintos bivalentes c) entre células de un mismo individuo. Estos niveles de variación conducirán a unos patrones de distribución de quiasmas para ese individuo.

Estos patrones podrían no ser al azar si se vieran afectados por tres fenómenos principales: localización, terminalización e interferencia. Sin embargo, muchas veces resulta difícil saber cuál de ellos es el que está condicionando que un patrón determinado no sea al azar.

2.1. Variación en la formación de quiasmas entre zonas de un bivalente.

Si la probabilidad de formarse un quiasma es igual en todos los puntos de un bivalente, la distribución de quiasmas en ese bivalente será al azar. Los dos fenómenos que pueden alterar esta distribución al azar son la localización y la interferencia.

2.1.1. Localización.

Se entiende por localización el hecho de que los quiasmas se forman preferentemente en segmentos cromosómicos específicos.

La localización puede ser distal o proximal, existiendo una amplia variación, no solo entre especies (John y Lewis 1965), sino también entre sexos de la misma especie (Watson y Callan 1963, Ved Brat 1966, Vosa 1972 Perry y Jones 1974) e incluso entre bivalentes de la misma célula (White 1936, 1954).

A menudo la localización de quiasmas puede estar relacionada con la frecuencia de quiasmas: en organismos que tengan baja frecuencia de quiasmas y localización distal, al aumentar la frecuencia de quiasmas aparecerán más quiasmas intersticiales o proximales (rev. Rees y Jones 1977). Otras veces puede ser una consecuencia de

la interferencia (Henderson 1963, Fox 1973, ver rev. Sybenga 1975). A pesar de esto, muchas veces puede encontrarse que se altera la - distribución de quiasmas sin cambio en las frecuencias y sin que pue da ser atribuida a interferencia (Jones, 1967 y Jones 1974), por lo que es razonable aceptar que la localización puede tener un componen te intrínseco propio.

Existen dos hipótesis para explicar la localización de quiasmas:

a) Localización del apareamiento. Supone que los quiasmas solo pue den formarse en los segmentos que logren el apareamiento, y la exis tencia de localización de segmentos apareantes conducirá a locali zación de quiasmas. Esta hipótesis fué propuesta por Darlington - (1935) para explicar la correspondencia entre localización de quias mas y la de apareamiento en Fritillaria, donde ambas eran próxima - les. Este supuesto sería válido para las especies que presenten tal correspondencia, como por ejemplo la observada en la *Diplotena atí pica* de machos de Stethophyna grossum (Janssens 1924), Parapleurus alliaceus (Henderson 1969 a), Chrysochroon dispar (Henderson 1969 a) si bien estos organismos no presentan una Paquitena típica sino un estado difuso. Rhoades (1968) acepta que existe una relación entre la probabilidad de que se de un quiasma y la extensión del aparea - miento.

Sin embargo, se hace necesario puntualizar que el apareamiento incompleto del que se habla se refiere a apareamiento "efectivo", que puede no coincidir con el visible al óptico. Algunos autores su

ponen que la efectividad se basa en la posibilidad de que se forme complejo sinaptinémico normal. Por el contrario Stern y Hotta (1976) afirman que un complejo sinaptinémico aparentemente normal no representa necesariamente que se estén dando las condiciones de apareamiento necesarias para que pueda actuar la endonucleasa relacionada con la formación de quiasmas.

En los machos de Stethophlyma grossum Jones (1973) no encuentra elementos laterales desapareados al hacer reconstrucciones parciales de núcleos paquiténicos, atribuyendo entonces la localización a ciertas estructuras asimétricas de algunas zonas de los complejos sinaptinémicos. Pero cuando se hacen cortes seriados y se reconstruye totalmente el núcleo, se aprecia que en aquellos 8 bivalentes del total de 11 que presentan localización proximal de quiasmas (Janssens 1924, Perry y Jones 1974), la extensión de la formación de complejo sinaptinémicos está limitada en una longitud determinada a partir del centrómero (Wallace y Jones 1976, Fletcher 1976).

Esta hipótesis no es aceptada por John (1976) sobre la base de que en Chloactis conspersa, donde los tres bivalentes metacéntricos con localización distal presentan fallo del apareamiento intersticial, sin embargo en el resto de los bivalentes con localización distal o proximal el apareamiento es completo. También argumenta que el fallo del apareamiento observado en las Diplotenas atípicas de los organismos que presentan estado difuso en lugar de Paquitena, puede no ser tal, representando el estado difuso el momento en que el apareamiento es completo. Concluye que la localización del apareamiento es más

bien una consecuencia de la localización de quiasmas que la causa de ella.

Una modificación a la hipótesis del apareamiento interrumpido, que permite aplicarla a las especies en las que el apareamiento llega a ser completo, es suponer que la formación de quiasmas ocurre preferentemente en los sitios de iniciación del apareamiento. Por tanto con un determinado patrón de localización de estos puntos, se obtendría también un patrón específico de distribución de quiasmas (ver rev. John y Lewis 1965, Sybenga 1975 y Meguire 1977).

b) Distribución de quiasmas en relación a la distribución de heterocromatina.

White (1954) sugirió que el patrón de localización refleja la organización básica de los cromosomas, en particular la distribución de eu y heterocromatina.

En general se admite que no se forman quiasmas en las regiones heterocromáticas (ver rev. John y Lewis 1965, John 1976) y cuando se forman en estas zonas, lo hacen en realidad en las pequeñas secuencias encromáticas que contienen intercaladas (Dyer 1963, Fontana y Vickery (1974).

Linnert (1954) estudiando varias especies de Salvia que presentaban patrones diferentes de heterocromatina, vio que no había una correlación entre la presencia o ausencia de heterocromatina y la posición de los quiasmas. En S. nemorosa, donde se podía determinar

la posición de quiasmas en bivalentes individuales, se observaba que muchos de ellos se daban en la frontera entre hetero y encromatina, tal vez porque tales fronteras impidan el movimiento de los quiasmas. En este último aspecto Santos y Giraldez (1978) encuentran un comportamiento similar para la heterocromatina - C intersticial en Chorthippus biguttulus. Otros trabajos que, como éstos, observan ausencia de quiasmas en heterocromatina - C son los de: Marks (1974) en Anemura blanda, Jones (1978) en centeno, Hulten (1974) en el hombre, Fox, Carter y Hewitt (1973) en locustas.

Sobre la influencia de la heterocromatina en la frecuencia de quiasmas cabe destacar el trabajo de Shaw (1971) en Stathophyma. Observa un incremento de la media de quiasmas, por formarse un quiasma distal además del proximal, cuando hay segmentos heterocromáticos supernumerarios. Por ello se muestra contrario a la teoría del apareamiento interrumpido. También Yamamoto y Micklos (1978) cuando examinan por análisis genético las consecuencias meióticas de diversas deleciones parciales en la heterocromatina céntrica del cromosoma X, en hembras de Drosophila, comprueban que en cada uno de los tipos son sustancialmente diferentes tanto la cantidad como la posición de la recombinación con respecto a los de un X normal. Así mismo John (1973) observa una relación de los segmentos heterocromáticos con la frecuencia de quiasmas en locustas.

Las diferencias en la localización de quiasmas entre sexos, teniendo ambos el mismo patrón de heterocromatina, no podrían ser explicadas por esta teoría. Por tanto la heterocromatina no es la única

base de la localización de quiasmas.

2.1.2 Interferencia cromosómica.

El análisis genético lleva a Muller (1916) a definir la existencia de un fenómeno, que llama interferencia cromosómica, por el cual la ocurrencia previa de un sobrecruzamiento disminuye (interferencia positiva) o aumenta (interferencia negativa) la probabilidad de que se dé otro en un lugar próximo del cromosoma.

A nivel citológico este fenómeno se manifestaría por una localización y distribución de quiasmas no al azar (Henderson 1963, Fox 1973).

La hipótesis de Mather (1937) para explicar cual es el mecanismo de interferencia, asume que la formación de quiasmas es secuencial a partir de un punto inicial, que supone pueda ser el centrómero. El primer quiasma se formará a una distancia diferencial, d , del punto de iniciación y a partir de él los quiasmas se podrán formar guardando una distancia de interferencia, i . Holliday (1977) propone por primera vez una explicación molecular de la interferencia. Postula que la interferencia puede depender del importe limitado de una proteína con afinidad por el ADN, que esta localizada específicamente en el complejo sinaptonémico responsable de la estabilización del sobrecruzamiento. La disminución de esta proteína en la vecindad de un sobrecruzamiento hace improbable que se forme un segundo sobrecruzamiento en su proximidad.

La hipótesis de Mather parece tener confirmación en los trabajos experimentales realizados en Schistocerca gregaria por Henderson (1963) y Fox (1973) (si bien el punto inicial parece ser el telómero) y en humanos por Hulten (1974). Los dos primeros autores suponían que no se había dado terminalización hasta el momento en que hacían la toma de datos.

Cuando la posición del quiasma puede haber variado antes del momento de su observación, se puede abordar la existencia de interferencia por métodos más indirectos. Así como se reconoce un bivalente metacéntrico en Vicia faba, Haldane (1931) comprueba que la distribución de quiasmas por bivalente no se ajusta a la distribución de Poisson. La frecuencia de las clases con alto número de quiasmas son menores de lo esperado, lo cual indica que los quiasmas en el momento de su formación tienden a darse separados. También las frecuencias observadas para las clases de bajo número de quiasmas serán menores que las esperadas, ya que al calcularlas a partir de la media observada serán sobreestimadas. En el estudio de Rowlands (1958) para el mismo material, mide la coincidencia como la razón entre varianza observada y varianza esperada, siendo esta última igual a la media si hay una distribución de Poisson. Encuentra que el índice de interferencia, calculado como 1 menos la coincidencia, es significativo. En cambio Fogwill (1958) en Lilium longiflorum, mezclando los datos de los 10 bivalentes cortos obtiene una distribución de quiasmas por bivalente. A partir de la frecuencia observada para la clase de 0 quiasmas calcula la media y con ella la frecuencia esperada para la clase de 1 quiasma, suponiendo que se trata de una distribución de Poisson. Como la fre -

cuencia observada es mucho mayor supone que la interferencia ha hecho que muchos de los bivalentes que deberían de tener dos quiasmas se han quedado con solo un quiasma. También el método de la razón de varianzas detectaba interferencia significativa.

La interferencia a través del centrómero se ha estudiado por diferentes métodos, según pudieran o no distinguirse los brazos cromosómicos.

En bivalentes metacéntricos se supone que la probabilidad de formar quiasmas es igual en los dos brazos, y a partir de la media de quiasmas observada por brazo cromosómico se calculan las frecuencias esperadas de bivalentes cerrados, abiertos y pares de univalentes, comparándolas después con las observadas. Por este método se detectó interferencia a través del centrómero en Gulex pipiens y no en Theobaldia longiareolata (Callan y Montalenti 1947). Sybenga (1960) introduce una modificación suponiendo que las probabilidades no son iguales en los dos brazos, en función de su longitud. Observa desviaciones de las frecuencias esperadas en Secale, Crotolaria y Coffea, pero las interpreta como causadas por cierto tipo de localización de quiasmas.

Cuando pueden distinguirse los brazos de los bivalentes, los métodos utilizados han sido: el ya citado de la razón de varianzas por Patau (1941) en Dicranomyia trinitata, el análisis de regresión entre las frecuencias de quiasmas de los dos brazos para grupos de cromosomas submetacéntricos o subacrocentricos por Harte (1956) en Paeonia triaristata, y la estimación de la coincidencia como la razón entre -

los bivalentes cerrados observados y los esperados, calculados estos últimos a partir de las frecuencias de quiasmas observadas en cada uno de los brazos por Sybenga y De Vries (1972) para B-cromosomas de Secale cereale. Si bien en el primer estudio se detectó fuerte interferencia positiva entre brazos, en los otros dos se encontró variación para el tipo de interferencia o su manifestación, según el grupo cromosómico estudiado (Paeonia) o según la planta estudiada (Secale). En este último caso, Sybenga atribuye tal comportamiento a diferencias en la localización de quiasmas, de modo que en la planta que tenga una localización más proximal del quiasma en el brazo largo, éste interferirá la formación de quiasma en el brazo corto.

En general parece haber una correlación negativa entre la frecuencia de quiasmas y la posibilidad de detectar interferencia a través del centrómero (ver rev. Sybenga 1975). No obstante, la correspondencia entre baja frecuencia de quiasmas e interferencia a través del centrómero no es estricta: no la habrá cuando la causa de la baja frecuencia no sea la interferencia, sino cualquier otro factor. Por ejemplo, si existe fallo de apareamiento alrededor del centrómero, en todo caso se observaría interferencia negativa en el sentido de que cuando falla el apareamiento no hay quiasmas a ambos lados, y cuando se da el apareamiento se formarán a la vez en los dos. La variabilidad en la frecuencia de quiasmas entre células podría llevar también a los mismos resultados.

2.2. Variación en la formación de quiasmas entre bivalentes.

Aunque el número de quiasmas que presenta un bivalente determinado

puede variar de unas células a otras dentro de un individuo, el número medio de quiasmas puede ser característico para cada tipo de bivalente. La causa de esta variación entre bivalentes puede ser la diferente longitud de los cromosomas. No obstante esta relación no es simple.

Muchas veces se observa que puede variar la longitud total del conjunto de bivalentes. Esto puede ocurrir de modo natural: entre células en - - Schistocerca gregaria (Henderson 1963, Fox, 1973) o entre saxos en Lilium (Fogwill 1958), o bien inducido, como en el caso de Bennett y Rees (1970) en centeno con el uso de altas dosis de fosfato. En todos estos casos hay una correlación positiva entre la longitud del complemento cromosómico y - la frecuencia total de quiasmas.

En líneas generales se comprueba el mismo tipo de correlación cuando se comparan bivalentes de diferentes longitudes [Melanopus por Hearne y - Huskins (1935); en diversas especies por Darlington (1937, 1965); en locus tas por Mather (1937); en Schistocerca gregaria por Henderson (1963) y Fox 1973, en Paeonia por Harte (1956)] o brazos cromosómicos de diferente longitud [en Edymion por Elliot (1958) en B-cromosomas de centeno por Sybenga y De Vries (1972)]. Sin embargo se observaban numerosas excepciones. Así - por ejemplo en los trabajos de Mather (1937) y Henderson (1963) los cromosomas más pequeños presentan invariablemente un quiasma independientemente de la longitud. Los cromosomas de tamaño medio en el trabajo de Henderson (1963) presentan también ciertas irregularidades.

De las dos hipótesis propuestas por Henderson (1963) para explicar la relación causal entre longitud cromosómica y frecuencia de quiasmas: el me

canismo actua a nivel de bivalente, o actua a nivel de célula, parece ser cierta la segunda (Fox 1973).

Por otro lado, puede suceder que las diferencias entre bivalentes estén condicionadas por una localización inter-bivalente de quiasmas, independientemente de su longitud. La distribución no al azar de quiasmas observada por Sybenga (1960) en Secale, Grotolaria y Coffea es interpretada por este autor como una localización de este tipo. La naturaleza de esta localización es desconocida. Si se recuerda que en general se admite que no se forman quiasmas en las regiones heterocromáticas, puede comprenderse como bivalentes de idéntica longitud, pero con distinto contenido en heterocromatina podrían presentar distintas frecuencias medias de quiasmas. Esto mismo sería aplicable a brazos cromosómicos. Así, Sybenga y De Vries (1972) explican como la no coincidencia de la razón de frecuencias de sobrecruzamientos estimada de brazo largo a brazo corto y la razón de las longitudes de los brazos en B-cromosomas de centeno, se debe a que el fragmento de heterocromatina presente a ambos lados del centrómero es proporcionalmente más largo en el brazo corto que en el brazo largo.

2.3. Variación en la formación de quiasmas entre células del mismo individuo.

Esta variación sería al azar si la probabilidad de formación de quiasmas en cada bivalente es independiente de la formación de quiasmas en los restantes.

Este patrón de distribución al azar puede ser modificado principalmente por dos causas:

2.3.1. Interferencia intercromosómica.

Se dice que hay interferencia intercromosómica dentro de una célula cuando la formación de un quiasma en un bivalente modifica la probabilidad de formación de quiasmas en los restantes.

Los efectos pueden ser unilaterales como los observados por Morgan et al. (1933) en Drosophila melanogaster, donde la reducción del sobrecruzamiento en los cromosomas heterocigotos para una inversión conduce a un aumento de las frecuencias de sobrecruzamiento en segmentos específicos de otros cromosomas (ver rev. de Lucchesi y Suzuki, 1968). También John (1973) detecta que la frecuencia de quiasmas por célula en heterocigotos para ciertos segmentos supernumerarios es muy superior a la de los homocigotos.

Los efectos recíprocos se han podido estudiar mediante correlaciones para las frecuencias de quiasmas por célula entre grupos de cromosomas reconocibles. Los resultados han sido muy variables. En centeno, Darlington (1933) encontró correlación negativa entre los B-cromosomas y los A-cromosomas para frecuencia de quiasmas por célula. En Vicia faba Sax (1935) no detectó correlación entre el bivalente del cromosoma largo metacéntrico y los 5 bivalentes cortos, mientras Rowlands (1958) obtuvo siempre correlaciones negativas, aunque variaba el rango en distintas plantas. En Paeonia, Harte (1956) encontró amplia variación en el rango y en el signo de las correlaciones entre distintos pares de bivalentes o entre un par y el resto del genoma. En Edymion non-scriptus, donde se reconocen 5 -

de los 8 bivalentes, Elliot (1958) observó correlaciones, tanto positivas como negativas, aunque solo pocas de ellas eran significativas.

Cuando no se distinguen los bivalentes entre sí, la existencia de interferencia intercromosómica se ha investigado suponiendo que si no existen estos efectos, la distribución de quiasmas por célula será al azar. Esta distribución al azar será en centeno una Poisson, si se supone que la probabilidad de formar quiasmas es igual para todos los cromosomas y para todos los brazos cromosómicos (Sybenga 1960, Jones 1967). Recientemente Giraldez y Lacadena (1978) demuestran que la distribución al azar en centeno consanguíneo es función de una distribución trinomial, que tiene en cuenta las probabilidades de los bivalentes cerrados, abiertos y pares de univalentes.

Otro método es el análisis de varianza para comparar la varianza entre células con la varianza intracelular. La varianza intracelular será una estimación de la varianza entre bivalentes. Si la varianza intracelular resulta mayor que la intercelular, esto significa que hay un componente de interdependencia entre bivalentes, de modo que existe una correlación negativa entre ellos para frecuencia de quiasmas. Este es el resultado obtenido por Mather y Lamm (1935) para poblaciones algamas de centeno. También Sybenga (1967) ha demostrado en heterocigotos para translocación en centeno, que la falta de homogeneidad dentro de las células puede inducir correlación negativa. Si la varianza entre células es muy grande, debido a falta de homogeneidad en el tejido, pueden quedar enmascarados los efectos

intercromosómicos, e incluso aparecer una correlación positiva entre bivalentes: todos tienen baja frecuencia o todos tienen alta - frecuencia. Esta es tal vez la razón por la que Lamm (1936) encuentra en líneas consanguíneas de centeno varias correlaciones positivas, al haber una rotura del mecanismo de control normal del sobre cruzamiento y una reducción de la frecuencia total de quiasmas. Tampoco Sybenga (1958) encuentra que sea mayor la varianza intracelular que la intercelular, en centeno consanguíneo. Por este método se han obtenido resultados variables en Vicia faba (Rowlands 1958) en Endymion y Hyacinthus (Elliot 1958).

Basak y Jain (1963) introducen una modificación a este método en su estudio en Delphinium ajacis. Si agrupaban las plantas en distintas categorías por frecuencia de quiasmas, deducían que era más - fuerte la correlación negativa entre los dos grupos de bivalentes - que distinguían, en los grupos con mayor frecuencia de quiasmas.

Sobre la base de la interferencia cromosómica Mather (1939) postuló la hipótesis de que el número total de quiasmas en una célula tiene unos límites máximo y mínimo específicos, de modo que los bivalentes compiten por esos quiasmas. Rees y Thompson (1958) confirman la existencia de un límite superior en el número de quiasmas por célula, de manera que cuando hay un incremento en la variación entre células, la dirección del cambio es en el sentido de células con - frecuencias mas bajas de quiasmas. Basak y Jain (1963) puntualizan que esta competencia sería solo por arriba de cierto límite, y que se relajaría más allá de cierto nivel. Esto explicaría también por

qué no eran corrientes las correlaciones negativas entre bivalentes en líneas consanguíneas de centeno, mientras sí lo eran en poblaciones alógamas.

2.3.2. Variación entre grupos de células de un mismo individuo.

Además de las diferencias sexuales en individuos hemafroditas (Pastor y Callah 1952 en Dendrocoelum lacteum), puede observarse a veces diferencias entre partes de una misma antena (en centeno Syben 1958, Rees y Naylor 1960) o entre cistos de un mismo animal en saltamontes (Shaw 1971). Este tipo de variaciones pueden estar condicionadas en parte por variaciones en las propiedades bioquímicas de diferentes partes del mismo órgano, y en parte son de una naturaleza menos obvia. En el último caso, se asume que se mantiene un cierto patrón de regulación para cada línea celular descendiente de un célula madre, de manera que distintas líneas pueden tener patrones levemente diferentes.

3. TERMINALIZACION

La terminalización fue definida por Darlington como el movimiento de los quiasmas hacia los extremos de los cromosomas que tiene lugar desde su formación hasta la Metafase I. En un principio la terminalización fue considerada como un fenómeno general, llegándose incluso a proponer una serie de hipótesis para explicarla: repulsión electrostática centromérica (Darlington 1937), repulsión por contracción cromosómica (Swanson 1942) y repulsión por elasticidad cromosómica (Östergren 1943). Al llegar a Prometafase, con la formación del huso se

añadirían además las fuerzas centroméricas.

Sin embargo los estudios más recientes sobre este fenómeno, han provocado una polémica sobre su existencia, quizá debida en gran parte al material y el método utilizado.

Para detectar este movimiento puede usarse la comparación entre las frecuencias de quiasmas en fases tempranas y en fases tardías. Este método tiene el inconveniente de que las frecuencias de quiasmas en Diplotena pueden ser sobreestimadas al contar como quiasmas simples vueltas (Levan 1936) y las frecuencias de quiasmas en Metafase I pueden ser subestimadas en especies que presenten baja frecuencia de quiasmas y localización distal de éstos, porque los quiasmas pueden fundirse en el extremo del cromosoma. Tal vez por esto se han encontrado resultados tan dispares al utilizar este método:

Así en Melanopus femur-rubrum, Hearne y Huskins (1935) encuentran terminalización desde Diplotena temprana o tardía, pero no en fases posteriores. En saltamontes la niega Southern (1967) y también la niegan para Diplotena Henderson (1963) y Fox (1973) en Schistocerca gregaria. Shaw (1971) considera que las diferencias entre las Diplotenas y las Metafases I en Stethophyma se deben a diferencias entre cistos en lugar de a terminalización. En Chorthippus biguttulus, Santos y Giraldez (1978) encuentra un incremento significativo de quiasmas distales en Metafase I en comparación con Diplotena, en el conjunto de individuos que estudian. En humanos, Hulten (1974) niega la terminalización desde Diplotena en adelante, pero no descarta que pueda haber ocurrido antes.

Otro método utilizado sería el poder reconocer determinados segmentos

cromosómicos: Por bandeo-C. Santos y Giraldez (1978) demuestran que en heterocigotos para un segmento de heterocromatina-C intersticial, no ocurre terminalización de los quiasmas que se dan más proximales al centrómero que ese fragmento. Jones (1978) interpreta que en los bivalentes metafásicos con heterocromatina-C terminal de una línea consanguínea de centeno y una variedad comercial lo que - ha ocurrido en realidad es pseudo-terminalización.

Fu y Sears (1973) en heterocigotos para translocación de Triticum aestivum observan que los quiasmas no aparecen en la zona intercalar, porque probablemente terminalizan hacia las regiones terminales donde hay homología y ahí son mantenidos. Otros estudios de este tipo puede consultarse en la revisión de - - Sybenga (1975).

Maguire (1979) dispone de una planta de maíz que era heterocigota para una translocación y para un knob en la zona de translocación en un par de cromosomas, y además era heterocigota para otros knobs en otros pares de cromosomas. Cuando observaba las Diacinesis nunca encontró segregación ecuacional para los - knobs si no había un quiasma distal. Lógicamente interpretaba que dicho quiasma se había dado proximal pero había terminalizado a través del knob.

También se ha usado el marcado de una de las dos cromátidas de los cromosomas por autorradiografía, lo cual permite distinguir si los quiasmas coinciden con el punto de sobrecruzamiento. De este modo niegan la terminalización - Peacock (1970) en Goniaca australasiae y Jones (1977) en Schistocerca gregaria. Más fina que esta técnica, es el marcado con BrdU utilizado por Tease y Jones - (1978) en Locusta migratoria, negando la terminalización en sus observaciones en Diplotenas y Metafasas I.

Giraldez y Lacadena (1976) deducen de un modo indirecto, a partir del comportamiento de los univalentes en Anafase I, que en Metafase I ~~de~~ líneas consanguíneas de centeno hay dos tipos de univalentes, los que ya estaban al principio de la Metafase como tales y los que se han soltado durante ella. Es decir que podría ocurrir terminalización de quiasmas en esta fase, como ya apuntaba Sybenga (1958).

4. ERRORES EN FORMACION DE QUIASMAS.

La recombinación genética lleva consigo el intercambio de segmentos cromosómicos (Stern 1931, Creighton y Mc Clintock 1931), producidos sin duda, por rotura y reunión cambiada (Taylor 1965, Peacock 1970, Church y Wimber 1969, Craig-Cameron y Jones 1970, Jones 1971). Estos últimos estudios llevados a cabo mediante el empleo de técnicas autorradiográficas, permiten aclarar que además puede existir también una pequeña proporción de intercambio entre cromátidas hermanas.

Si por error en el intercambio la reunión se diera entre extremos situados a un mismo lado de la rotura (intercambio de tipo U), en lugar de cruzado (intercambio de tipo X) podrían aparecer puentes y fragmentos en estadios posteriores a la Metafase I. El tipo de puente originado así como la fase de la meiosis en la que aparecería, estaría condicionado por factores tales como el número y la posición de quiasmas formados en el brazo del bivalente correspondiente, las cromátidas (hermanas o no hermanas) que intervienen en el intercambio erróneo, etc.

Frecuentemente en material desinápico, suelen aparecer puentes y frag

mentos en Anafase I. Así ocurre en: Alopecurus myosuroides (Johnsson 1944), Secale cereale (Müntzing y Akdik 1948; Rees 1955; Jones 1968, 1969; Jones y Brumpton 1971), Scilla sibirica (Rees 1952), Bromus sp. (Walters 1952), Paris verticillata (Haga 1953), Paeonia californica (Walters 1956), Allium cepa (Koul 1962), - - Elymus farctus (Heneen 1963), Podophyllum peltatum (Newman 1967), Tulipa sp. - (Couzin y Fox 1973, Southern 1967 a), Pisum sativum (Klein y Baguard 1972).

Jones en 1968 estableció una correspondencia clara entre la localización de quiasmas en los distintos genotipos y el tamaño de los fragmentos. Más tarde el mismo autor (Jones 1969) observó una correspondencia de la distribución de quiasmas entre los bivalentes y dentro de los bivalentes y la distribución de los intercambios de tipo U. Giraldez y Lacadena (1978) encuentran una correspondencia entre la distribución de quiasmas y la de puentes y fragmentos entre bivalentes. En distintos genotipos detectan una correlación negativa entre frecuencia de quiasmas en Metafase I y frecuencia de puentes en Anafase I, y en cambio una correlación positiva entre frecuencia de quiasmas y tamaño del fragmento.

Así pues parece haber una relación clara de los intercambios de tipo U con el intercambio que conduce al sobre cruzamiento.

En este caso, si todos los quiasmas tuvieran la misma probabilidad de ser erróneos, la distribución del tamaño de los fragmentos puede tomarse como una estimación de la distribución real de quiasmas dentro de los bivalentes como hacen Jones (1978) y Giraldez y Lacadena (1978).

O B J E T O D E L A T E S I S

Como se ha expuesto en la Introducción, la frecuencia y distribución de quiasmas en el momento de su formación puede no ser al azar, sino estar condicionada por los fenómenos de localización e interferencia. Además, este patrón original puede verse modificado por la terminalización. Los autores que han abordado el estudio de estos tres fenómenos presentan resultados a menudo contradictorios.

En el presente trabajo nos proponemos estudiar si en centeno desinápico (líneas consanguíneas) existe realmente una pérdida de quiasmas durante Metafase I, y si esta pérdida es de forma gradual.

Mediante la técnica de bandeo con Giemsa se pueden distinguir cuatro de los siete pares de cromosomas en una de las líneas de centeno consanguíneo utilizadas. Esto nos permite estudiar la posible existencia de interferencia inter e intracromosómica, y si esta última puede ser explicada por la terminalización.

Por último, del estudio de los puentes y fragmentos en Anafase I de esta misma línea, se intentará deducir si los errores de intercambio se producen en sitios específicos, y cuál es la posible naturaleza de los puentes sin fragmento.

MATERIAL Y METODOS

El material estudiado ha sido tres líneas consanguíneas de centeno, (P, V y E). La obtención de estas fué iniciada en la Estación Experimental de Aula Dei, C. S. I. C., Zaragoza.

De las líneas V y E se utilizó material con 20 y 17 generaciones de autofecundación respectivamente, mientras de la línea P se usó la generación 14 y la generación 16 de autofecundación.

Las plantas de P(14), V(20) y E (17) fueron sembradas todas en el mismo año y las de P(16) al año siguiente.

Para el material P(14) V(20) y E(17) se recogieron anteras de una sola espiga por planta, mientras para el material P(16) se recogieron antera de varias - espigas por planta.

Estas anteras se fijaron en alcohol acético, 3 : 1.

1.- Técnicas citológicas.

Se utilizaron dos técnicas de tinción diferentes en las anteras ya fijadas según el método descrito.

1.1. Tinción convencional.

En nuestro caso se empleó el método de Feulgen, sumergiendo las ante -

teraz en $\text{ClH } 1 \text{ N}$, a 60° C durante 10 minutos y tiñéndolas posteriormente con Fucsina.

Las preparaciones se hicieron por squash en acético al 45% y se montaron con Sandeural después de congelación con nieve carbónica y deshidratación sucesiva en alcohol de 96° y 99°.

Esta técnica fue aplicada al material P(14), V(20) y E (17).

1.2. Técnica de bandeado - C.

Se siguió la técnica descrita por Verma y Rees (1974) y modificada por Giraldez, Cerneño y Orellana (1979). Consta de los siguientes pasos:

Con el material fijado se hacen las preparaciones por squash, en acético al 45% y a continuación se separaron porta y cubre con nieve carbónica y rápidamente se introduce el portaobjetos en alcohol absoluto para su deshidratación durante 24 horas.

El portaobjetos se seca al aire y se mete en $\text{Cl HO}^2\text{N}$, a 60° C , durante 3 minutos, lavándose después energicamente en agua corriente y a continuación se coloca en solución saturada de Pa (OH)_2 , a temperatura ambiente durante 10 minutos. Después de lavar de nuevo en agua corriente se sumerge en 2 x SSC, a 60° C durante 1 hora. La tinción se realiza con una solución de 3 ml de Giensa (Gurr's R 66) en 100 ml. de tampón fosfato a pH = 7. Cuando al microscopio de contraste de fase se observa que el grado de tinción es el adecuado, se lavan en agua corriente y se secan con aire. Después de

introducirlas en xilol durante 5 minutos se montan con DPX.

Esta técnica fué aplicada al material P (16) por ser la línea P la única en la que este método permitía distinguir entre sí hasta cuatro pares de cromosomas en Metafase I. En cambio en Anafase I solo era posible distinguir un máximo de tres pares de cromosomas.

2. Estimación del momento de la Metafase I.

Se utilizó el índice de Rees y Naylor (1960):

$$I = \frac{100 - a + b}{2} \quad \text{siendo } a = \% \text{ de células anteriores a Metafase I y}$$

$$b = \% \text{ de células posteriores a Metafase I.}$$

Se contaron con tal fin 100 células en cada preparación.

Dado el grado de sincronía que presentan las células en meiosis dentro de una antera en el centeno, este índice supone una estimación del momento medio dentro de la Metafase I en el que se encuentran los meiocitos de esa antera, ya que es de suponer que las Metafase I que coexisten con fases anteriores serán más tempranas que las que coexisten con fases posteriores. Por lo general, al aplicar este índice a una antera completa, se suele tropezar con el inconveniente de que aparezcan simultáneamente células anteriores y posteriores a la Metafase I. Para evitarlo hicimos cada preparación con un saco polínico, por suponer que el grado de asincronía sería menor dentro de él, que dentro de la antera completa.

Los 4 sacos de cada antera se separaron intactos a la lupa con dos -

agujas enmangadas.

Efectivamente, observamos que de este modo en cada preparación aparecían junto a las Metafases I solo fases anteriores o solo posteriores.

Para el material P(16), en el que se utilizó como tinción la técnica de bandeo - C, se hizo una preparación con cada antera, puesto que la dificultad de este método de tinción y su baja probabilidad de éxito, muchas veces dependientes del estado de conservación de la antera, no aconsejaban hacerlas separando los sacos. Por tanto, en este caso el índice obtenido no será tan buen estimador del momento de la Metafase I, al menos en aquellas anteras donde junto a las Metafases I coexistan tanto las fases anteriores como las posteriores.

3. Estimación del número de quiasmas.

Se utilizó como estimación del número de quiasmas el número de brazos de bivalentes unidos en Metafase I.

Giraldez y Orellana (1979) llegan a la conclusión de que en híbridos entre las líneas P y E, la frecuencia de brazos unidos en Metafase I no es muy inferior a la frecuencia de quiasmas. Como en las líneas consanguíneas la frecuencia de brazos unidos es bastante más baja que la observada en los híbridos, es de esperar que el parecido entre frecuencia de brazos unidos y frecuencia de quiasmas en estas líneas será aún mayor.

En el material de P(14) V(20) y E (17) se contaron para esta estimación un total de 25 Metafases I en cada saco, mientras en el material P(16) se contaron 100 en cada antera.

R E S U L T A D O S

1. Niveles de variación en la asincronía celular

Los cuadros 1, 2 y 3 muestran los totales de bivalentes cerrados, bivalentes abiertos, pares de univalentes y número de quiasmas en 25 células de cada saco polínico, en las líneas P(14), V(20) y E(17) respectivamente, así como los índices estimadores del momento de la Metafase I en dichos sacos.

Como ya se indicó en el apartado correspondiente a material y métodos, el hacer una preparación con cada uno de los sacos polínicos presentaba la ventaja de que en cada saco junto a las Metafases I solo aparecían o fases anteriores o fases posteriores, pero no ambas a la vez.

A la vista de estos cuadros 1, 2 y 3, puede comprobarse como, para una misma antera pueden existir sacos con valores de índice inferiores y superiores a 50, es decir que dentro de una misma antera pueden coincidir tanto fases anteriores como posteriores junto a las Metafases I, indicando un grado de asincronía mayor que dentro del saco.

Los rangos de variación entre los índices de los sacos de una misma antera son diferentes según las anteras, aunque la mayoría de ellos (en 38 de las 53 anteras) son inferiores a 25.

Entre anteras de la misma flor el rango de variación entre índices de las anteras (calculados estos últimos como medias de los de sus sacos), es también variable según las flores, teniendo un rango inferior a 25 solamente en 14 de los

24 flores en las que se pudo calcular este valor (flores con más de una antera).

Como era de esperar estos datos indican que la asincronía aumenta en la - dirección: dentro del mismo saco < entre sacos de la misma antera < entre anteras de la misma flor.

2. Terminalización

En el supuesto de que existiera pérdida de brazos unidos a lo largo de la Metafase I sería de esperar que el valor del índice estimador del momento de la - Metafase I y el número de quiasmas de cada saco polínico estuviesen correlacionados negativamente.

Con este objeto se calcularon los coeficientes de regresión lineal del total de quiasmas que presentaban las 25 células contadas en cada saco sobre las - transformaciones angulares de sus correspondientes valores de índice. De los cuadros 1, 2 y 3 se puede deducir el número de sacos de que se dispone para cada planta y para el total de cada línea. Los coeficientes de regresión calculados, así como su nivel de significación (realizado mediante la prueba t) se recogen en el cuadro 4. Como puede observarse todos los coeficientes son negativos y solo en tres de las plantas (P-4, E-4 y E-5) los coeficientes no son significativamente distintos de cero. Para el total de las tres líneas P(14), V(20) y E(17) son negativos y altamente significativos.

Las figuras 1, 2 y 3 representan las rectas de regresión para cada una de estas líneas.

Las pendientes de las rectas de regresión de cada línea se compararon dos a dos, mediante una prueba t para las diferencias entre estas pendientes. Como - puede verse en el cuadro 5, no resultan significativas las diferencias entre las pendientes de las líneas P(14) y V (20), ni entre las líneas V(20) y E (17). Sin embargo entre las líneas P(14) y E (17) que son las que tienen los valores más extremos, las diferencias resultan significativas justamente al nivel del 5%. Una vez comprobada la existencia de pérdida de quiasmas a lo largo de la Metafase I, cabe preguntarse si la contribución de los bivalentes cerrados y abiertos a esta pérdida de quiasmas es por igual. Con el objeto de ver cómo varían las proporciones relativas de bivalentes cerrados, bivalentes abiertos y pares de univalentes se obtuvieron los coeficientes de regresión de sus frecuencias correspondientes - sobre el valor índice (transformado en ángulos) de cada saco. Los resultados obtenidos se expresan en los cuadros 6, 7 y 8 respectivamente, y se representan gráficamente en las figuras 4 a 12.

El número de bivalentes cerrados disminuye significativamente en todas las plantas excepto en aquellas tres en las que anteriormente no se observó disminución significativa del número de quiasmas. En el total de cada línea también disminuye significativamente.

En el análisis realizado con los bivalentes abiertos se encuentran según las plantas tanto coeficientes de regresión positivos como negativos, pero en aquellas plantas en las cuales llegan a ser significativamente diferentes de 0, siempre son positivos. Con el total de sacos de cada línea, resultan positivos en las tres líneas, aunque solo son significativos en las líneas P(14) y V(20).

Todos los coeficientes de regresión para el número de pares de univalentes son positivos y solamente en tres de las plantas (P-4, V-4 y E-5) no alcanzan ni-

veles de significación. En el total de las tres líneas son altamente significativos.

En resumen, a lo largo de la Metafase I se observa una disminución significativa de bivalentes cerrados y un aumento significativo de pares de univalentes. También, aunque en menor medida, se observa un aumento del número de bivalentes - abiertos.

Como ya se indicó anteriormente, mediante la técnica de bandeo-C podemos - distinguir, en Metafase I del material P(16), cuatro pares de cromosomas, así como los dos brazos de cada par. Esto nos permitió estudiar la contribución de algunos brazos cromosómicos específicos a la pérdida de quiasmas..

En la lámina I figura una célula bandeada de la línea P, así como la nomenclatura y el cariotipo correspondiente descrito por Giráldez, Cerneño y Orellana (1979).

En las láminas II y III, se pueden observar fotografías de células con bandeo-C en Metafase I, en las que aparecen señalados los bivalentes reconocibles (pares de cromosomas 3, 5, 6 y 7).

El cromosoma 3 es submetacéntrico y presenta una banda gruesa intensa de heterocromatina terminal en el brazo corto.

El cromosoma 7, que es el organizador nucleolar, es submetacéntrico, presenta una banda gruesa e intensa de heterocromatina terminal en el brazo largo, y una banda menos intensa en el brazo corto.

El cromosoma 6 es más acrocéntrico que los anteriores y presenta una banda gruesa e intensa terminal, en el brazo corto. En el brazo largo presenta una banda estrecha subterminal.

El cromosoma 5 tiene una relación de brazos similar al cromosoma 6 y presenta una banda de heterocromatina terminal más estrecha que la de este cromosoma en el brazo corto.

Los datos de valores de índice para cada una de las 26 anteras, así como los números de cada una de las cuatro configuraciones meióticas posibles, el número de quiasmas en el brazo largo, en el brazo corto y el total de quiasmas para el total de células contadas en cada antera, se recogen en los cuadros 9, 10, 11 y 12, para los cromosomas 3, 5, 6 y 7 respectivamente. En el cuadro 13 aparecen los datos para los restantes cromosomas no reconocibles, y en el cuadro 14 para el total de cromosomas.

En el cuadro 15 figuran coeficientes de regresión del número de quiasmas sobre el valor índice de cada antera, para cada par de brazos cromosómicos reconocibles, así como para los cromosomas no reconocibles y para el total de cromosomas. Se observa una disminución significativa en el número de quiasmas para el brazo corto del cromosoma 3 y los brazos largos de los cromosomas 5, 6 y 7, así como para los cromosomas no reconocibles, y el total de cromosomas.

Así pues, aunque puede observarse una tendencia general de pérdida de quiasmas a lo largo de Metafase I, esta pérdida puede no ser igual en todos los brazos cromosómicos.

3. Frecuencia de quiasmas en los distintos pares de brazos cromosómicos reconocibles.

Como ya hemos visto existe terminalización de quiasmas a lo largo de Metafase I, pudiendo no ser detectada en algunos brazos. Esto hace razonable que cuando queramos comparar la probabilidad de formación de quiasmas, entre los distintos brazos cromosómicos mediante una prueba t , lo hagamos utilizando anteras que se encuentren en el mismo grado de terminalización, con el objeto de que no exista una correlación positiva (como consecuencia de la terminalización) entre los pares de valores que tomamos para cada antera.

Hemos escogido las 6 anteras que presentan valor de índice 50.

La comparación de las frecuencias de quiasmas entre cada dos pares de brazos se realiza mediante una t que compara las medias de las medias de quiasmas - por célula de las 6 anteras. Los resultados pueden observarse en el cuadro 16. En todos los pares de cromosomas, la frecuencia de quiasmas en el brazo largo es significativamente diferente a la del brazo corto.

Entre los brazos largos de los cuatro cromosomas no existen diferencias significativas para los cromosomas 3 y 5, pero si entre el resto de los brazos largos.

La comparación entre los brazos cortos de los cuatro cromosomas, indica que el brazo corto del cromosoma 5 forma quiasmas con una frecuencia significativamente menor que todos los demás.

Las diferencias observadas en la frecuencia de quiasmas entre los distin-

tos brazos cromosómicos podrían tener relación con sus diferentes longitudes cromosómicas.

En la figura 13 se expresa la comparación entre las longitudes relativas de los distintos brazos cromosómicos de la línea P(16) (tomados de Giráldez, Cermeño y Orellana 1979) y la frecuencia de quiasmas en las anteras con índice 50. El coeficiente de regresión de las frecuencias de quiasmas sobre las transformaciones angulares de las longitudes relativas tiene un valor $b = + 7'1228$ que resulta ser significativamente distinto de 0 ($t = 5'1057$, $p < 0'01$).

Sin embargo debemos resaltar que esta relación (vease figura 13) entre longitudes relativas y frecuencias de quiasmas es simplemente una tendencia general, ya que por ejemplo brazos con longitudes prácticamente iguales, como los brazos cortos de los cromosomas 5 y 6, presentan una t significativa entre la media de las medias de quiasmas por célula y por el contrario, para brazos con longitud relativa muy diferente, como los brazos largos de los cromosomas 3 y 5 se obtiene una desviación no significativa (vease cuadro 16).

4. Interferencia.

Otro de los fenómenos que nos permite estudiar el hecho de distinguir los cromosomas es la interferencia, tanto la interferencia a través del centrómero como la interferencia intercromosómica.

4.1. Interferencia a través del centrómero.

Se estudió por dos métodos diferentes:

- 1) El primero de estos métodos se basa en la comparación mediante un χ^2 de los valores observados de bivalentes cerrados, bivalentes abiertos unidos por el brazo largo, bivalentes abiertos unidos por el brazo corto y pares de univalentes, con los esperados en el supuesto de que no exista interferencia.

Sea p_1 la probabilidad de que aparezca unido el par de brazos largos de un cromosoma y p_c la probabilidad de que aparezca unido el brazo - corto.

En ausencia de interferencia entre brazos del mismo par de cromosomas, la probabilidad de que ese par aparezca como bivalente cerrado será:

$$p_1 \times p_c$$

La probabilidad de que aparezca como bivalente abierto unido por el brazo largo será : $p_1 (1 - p_c)$

La probabilidad de que aparezca como bivalente abierto unido por el brazo corto será : $(1 - p_1) p_c$

y la probabilidad de que aparezca formando un par de univalentes será:

$$(1 - p_1) (1 - p_c).$$

En el cuadro 17 se observan los datos obtenidos para el total de las 26 anteras.

Las diferencias son significativas para los cromosomas 3, 5 y 6 y no lo son para el cromosoma 7.

Por otro parte, en todos los casos los valores observados para bivalentes cerrados y pares de univalentes son mayores de los esperados, lo cual indicaría la existencia de interferencia negativa a través del centrómero.

Sin embargo existe la posibilidad de que la pérdida de quiasmas observada a lo largo de la Metafase I pudiera suponer una modificación de las proporciones relativas de las cuatro configuraciones meióticas posibles. Por ello este estudio realizado con el total de las anteras, se hizo después por separado en anteras que se encontraban en Metafase I temprana media y tardía.

En el cuadro 18 se muestran los datos para las anteras en Metafase temprana (con más del 5% de células en diacinesis, valor de índice inferior a 47'5). En ningún caso los χ^2 resultan significativos. Aunque para el cromosoma 6 no puede calcularse el χ^2 , dado el tamaño de la muestra, el ajuste entre los valores observados y los esperados es patente.

En el cuadro 19 aparecen los datos para las anteras en Metafases medias (con más del 95% de células en Metafase I, valores de índice comprendidos entre 47'5 y 52'5). Las desviaciones entre valores observados y esperados son significativas para los cromosomas 3 y 5, y son también en el sentido que cabría esperar en caso de existir interferencia negativa.

En el cuadro 20, se recogen los datos obtenidos para las anteras en Metafase tardía (más del 5% de células en fases posteriores a Metafase I, valor de índice superior a 52'5), resultando significativo el χ^2 solo para el cromosoma 7, siendo también en este caso mayores las frecuencias observadas de bivalentes cerrados y pares de univalentes.

El posible significado de esta variación, a lo largo de la Metafase I, en el ajuste entre los valores observados y los esperados, será discutido más adelante.

- 2) El segundo método utilizado para estimar la existencia de interferencia a través del centrómero, consiste en calcular los coeficientes de regresión del número de quiasmas en el brazo corto sobre el número de quiasmas en el brazo largo para cada par de cromosomas. Se utilizaron los pares de datos de cada una de las 23 anteras en las que se pudo contar 100 células en Metafase I.

Si existe interferencia positiva, cabe esperar regresiones negativas significativas. Sin embargo la existencia de regresiones positivas significativas podría ser explicada tanto por interferencia negativa entre brazos del mismo cromosoma, como por terminalización.

Los resultados que se resumen en el cuadro 21 muestran que solo - el cromosoma 5 presenta un coeficiente de regresión significativamente distinto de 0, siendo positivo.

4.2. Interferencia intercromosómica.

También en este caso se usaron dos métodos para el estudio de la interferencia intercromosómica.

- 1) El primer método es el cálculo de los coeficientes de regresión entre las frecuencias de quiasmas, comparando dos a dos los 4 cromosomas reconocibles. Se usaron para ello las anteras en las que se habían contado 100 células en Metafase I.

Si los cromosomas se comportan como independientes en cuanto a la probabilidad de formación de quiasmas, no debe aparecer ningún tipo de correlación significativa entre las frecuencias de quiasmas de los distintos cromosomas. Por el contrario si la formación de un quiasma en un bivalente disminuye la probabilidad de quiasmas en los restantes, pueden aparecer correlaciones negativas. Las correlaciones positivas pueden explicarse tanto si la varianza entre células es muy grande, como si existe terminalización.

En el cuadro 22 se muestran los resultados obtenidos. Todos los coeficientes de regresión son positivos, resultando significativas solo las comparaciones entre las frecuencias de quiasmas de los pares 5 con el 6, 5 con el 7 y 3 con el 7.

Estas correlaciones positivas pueden ser explicadas por el distinto grado de terminalización de las anteras utilizadas.

2) El segundo método se utilizó para estudiar los posibles efectos inter - cromosómicos entre el grupo de cromosomas reconocibles y los cromosomas no reconocibles. Se hizo una distribución del total de 2429 células en - Metafase I, atendiendo a la vez al número de quiasmas que presentaban en los cuatro cromosomas reconocibles y al número de quiasmas que presentaban en el resto de los cromosomas.

La hipótesis de independiencia en las probabilidades de formación de quiasmas de los dos grupos, puede ser comprobada mediante un χ^2 de contingencia.

En el cuadro 23 se muestra esta comparación. El χ^2 de contingencia no es significativo.

5. Puentes y fragmentos en Anafases I.

De los cuatro cromosomas reconocibles en M I solo tres de ellos (3, 6 y 7) pueden distinguirse claramente en Anafase I.

En las láminas IV a VI aparecen algunas de las células en Anafase I, conteniendo puentes y fragmentos formados por distintos cromosomas.

Como puede observarse existe una variación para el tamaño de los fragmentos, incluso dentro de los formados a partir de un mismo brazo cromosómico. Este hecho es especialmente patente en los brazos cromosómicos que contienen un bloque de heterocromatina terminal (3 corto, 6 corto y 7 largo) ya que pueden dar lugar a fragmentos que contienen solamente heterocromatina o bien hetero y eucromatina (vease

laminas IV, V y VI).

Por otra parte, se observó que los puentes formados por los brazos cromosómicos 3 corto, 6 corto y 7 largo (que poseen un bloque de heterocromatina telomérica) estaban formados exclusivamente por eucromatina, es decir, toda la heterocromatina de los bloques teloméricos aparecía formando parte de los fragmentos. Solamente se observaron cuatro casos en los que el bloque de heterocromatina telomérica apareció tanto en el puente como en el fragmento (vease lámina VI fotografía a). En estos cuatro casos el brazo cromosómico implicado en la formación de puente y fragmento fue el 3 corto.

El posible significado de estas observaciones será discutido más adelante.

En el cuadro 24 se indica la frecuencia de formación de puentes con o sin fragmento por parte de cada uno de los brazos de los tres cromosomas reconocibles, así como los puentes y fragmentos formados por el resto de los cromosomas.

Excepto en los cuatro casos anteriormente citados, los puentes originados a partir de los brazos que poseen heterocromatina telomérica estaban formados enteramente por eucromatina, por lo que no hay duda de que la falta de fragmento en estos casos puede ser explicada por su pérdida como consecuencia del squash.

Este hecho nos inclina a pensar que la aparición de puentes sin fragmento originados en el resto de los brazos cromosómicos se deba a este mismo fenómeno (pérdida en el squash), junto con la posibilidad de que, debido a su pequeño tamaño y a estar formado en su mayor parte por eucromatina, quede oculto entre el resto de los cromosomas. A favor de esta última posibilidad está el hecho de que -

aquellos brazos que poseen un bloque de heterocromatina (3 corto, 6 corto y 7 - largo) presentan una relación entre la frecuencia de puentes con fragmento y la frecuencia de puentes sin fragmento mayor que aquellos brazos cromosómicos que no presentan el bloque de heterocromatina. Esta mayor relación se explicaría por la mayor facilidad de visualización de los fragmentos formados por el bloque heterocromático telomérico.

Así pues, puede concluirse que al menos la mayor parte de los puentes tienen la misma naturaleza, por lo que posiblemente carece de base la distinción entre puentes con y sin fragmento.

Si los errores en la formación de quiasmas pueden conducir a la formación de puentes y fragmentos y la probabilidad de error es igual para todos los quiasmas, cabría esperar una correlación positiva entre la frecuencia de quiasmas y la frecuencia de puentes de cada par de brazos cromosómicos.

En la figura 14 se representa esta relación. El coeficiente de regresión obtenido entre el número de puentes y el número de quiasmas (en las metafases con índice 50) no es significativo ($b = -0.05643$, $t = 0.7132$, $p > 0.50$).

CUADRO 1

Línea P(14): Índice de cada saco polínico y total de bivalentes cerrados, abiertos, pares de univalentes y quiasmas en 25 células.

Planta	Flor	Antera	Saco	Índice	Biv. Cerrados	Biv. Abiertos	Pares Univalentes	Total Quiasmas
P - 1	1	1	1	32	80	71	24	231
			2	50	90	72	13	252
			3	54	103	59	13	265
			4	78	68	77	30	213
P - 1	1	2	1	11	114	60	1	288
			2	0	-	-	-	-
			3	0	-	-	-	-
			4	0	-	-	-	-
P - 1	2	1	1	47	96	64	15	256
			2	42	97	64	14	258
			3	53	105	56	14	266
			4	50	94	69	12	257
P - 1	2	2	1	44	101	61	13	263
			2	45	95	71	9	261
			3	29	93	72	10	258
			4	21	98	58	19	254
P - 1	3	1	1	99	61	78	36	200
			2	100	-	-	-	-
			3	100	-	-	-	-
			4	100	-	-	-	-
P - 1	3	2	1	52	79	81	15	239
			2	47	96	71	8	263
			3	50	83	76	16	242
			4	52	84	64	27	232
P - 2	1	1	1	75'5	102	65	8	269
			2	80	88	74	13	250
			3	89'5	88	64	23	240
			4	65	95	68	12	258
P - 2	1	2	1	43	80	79	16	239
			2	86'5	82	63	25	232
			3	78	98	57	20	253
			4	50	92	65	18	249
P - 2	2	1	1	95	65	85	25	215
			2	86	67	85	23	219
			3	61	68	87	20	223
			4	100	-	-	-	-
P - 2	2	2	1	18'5	105	59	11	269
			2	50	97	61	17	255
			3	46	104	60	11	266
			4	-	-	-	-	-

TABLE 3.1						(continuation)		
P	Q	R	S	T	U	V	W	X
P - 2	2	3	1	85	22	95	34	187
			2	26 ¹⁵	62	92	21	216
			3	100	-	-	-	-
			4	100	-	-	-	-
P - 3	1	1	1	50	113	49	13	275
			2	50	98	70	10	260
			3	50	104	57	14	265
			4	50	98	62	15	258
P - 3	1	2	1	26	122	47	6	291
			2	7 ¹⁵	124	44	7	292
			3	29 ¹⁵	114	53	2	281
			4	0	-	-	-	-
P - 3	2	1	1	90 ¹⁵	64	88	23	216
			2	91	71	92	12	234
			3	70	80	75	20	235
			4	100	-	-	-	-
P - 4	1	1	1	89 ¹⁵	36	74	15	246
			2	85	99	64	12	262
			3	98 ¹⁵	23	82	10	246
			4	21 ¹⁵	98	65	12	261
P - 4	1	2	1	61 ¹⁵	106	60	9	272
			2	62	108	56	11	272
			3	53 ¹⁵	93	70	12	256
			4	60 ¹⁵	93	69	13	255
P - 4	2	1	1	90 ¹⁵	100	62	13	262
			2	94 ¹⁵	98	64	13	260
			3	76 ¹⁵	82	75	18	239
			4	73 ¹⁵	96	71	8	263
P - 4	2	2	1	89	91	66	18	248
			2	88 ¹⁵	89	87	19	245
			3	87	93	63	19	249
			4	89	78	80	17	236
P - 5	1	1	1	33	109	60	6	276
			2	31	108	55	12	271
			3	35	102	64	9	268
			4	42	99	62	14	260
P - 5	1	2	1	0	-	-	-	-
			2	0	-	-	-	-
			3	0	-	-	-	-
			4	0	-	-	-	-
P - 5	2	1	1	55	99	60	16	258
			2	66 ¹⁵	101	60	14	262
			3	63 ¹⁵	84	73	18	241
			4	70	97	87	11	261
P - 5	2	2	1	100	-	-	-	-
			2	100	-	-	-	-
			3	100	-	-	-	-
			4	100	-	-	-	-
P - 5	3	1	1	83	85	67	23	237
			2	83	84	63	22	231
			3	60 ¹⁵	97	59	19	253
			4	100	-	-	-	-
P - 5	3	2	1	100	-	-	-	-
			2	100	-	-	-	-
			3	100	-	-	-	-
			4	100	-	-	-	-

CUADRO 2

Línea V(20): Índice de cada saco polínico y total de bivalentes cerrados, abiertos y pares de univalentes y quiasmas en 25 células.

Planta	Flor	Antera	Saco	Índice	Biv.		Pares		Total
					Cerrados	Abiertos	Univalentes	Quiasmas	
V - 1	1	1	1	48'5	137	35	3		309
			2	24'5	136	35	2		311
			3	31	142	31	2		315
			4	0	-	-	-		-
V - 1	1	2	1	37	141	32	2		314
			2	42	136	35	4		307
			3	52'5	141	32	2		314
			4	57	145	26	4		316
V - 1	2	1	1	79'5	114	55	6		283
			2	86	121	45	9		287
			3	58'5	120	48	7		288
			4	53	121	45	9		287
V - 2	1	1	1	27'5	140	35	0		315
			2	34'5	135	39	1		309
			3	39'5	134	39	2		307
			4	32	127	47	1		301
V - 2	1	2	1	34'5	121	48	6		290
			2	32'5	130	42	3		302
			3	39'5	128	45	2		301
			4	28'5	123	49	3		295
V - 2	2	1	1	91	94	55	26		243
			2	52'5	107	52	16		266
			3	100	-	-	-		-
			4	100	-	-	-		-
V - 2	2	2	1	81	108	47	20		263
			2	100	-	-	-		-
			3	100	-	-	-		-
			4	100	-	-	-		-
V - 3	1	1	1	64	113	54	8		280
			2	79'5	107	50	18		264
			3	100	-	-	-		-
			4	100	-	-	-		-
V - 3	1	2	1	50	122	50	3		294
			2	50	121	51	3		293
			3	65	109	50	16		268
			4	50	135	36	4		306
V - 4	1	1	1	10	131	41	3		303
			2	18	135	33	7		303
			3	31	129	41	5		299
			4	37,5	132	39	4		303
V - 4	1	2	1	38	124	46	5		294
			2	52	122	50	3		294
			3	79'5	105	56	14		266
			4	92'5	117	49	9		283

CUADRO 3

línea E(17): Índice de cada saco polínico y total de bivalentes cerrados, abiertos pares de univalentes y quiasmas de 25 células.

Planta	Flor	Antera	Saco	Índice	Biv. Cerrados	Biv. Abiertos	Pares Univalentes	Total Quiasmas
E - 1	1	1	1	73	57	58	20	212
			2	55	37	70	13	221
			3	65	109	50	16	260
			4	57	109	56	10	274
E - 1	1	2	1	95'5	79	63	33	221
			2	25'5	34	62	29	230
			3	91'5	93	59	23	225
			4	73	87	66	22	220
E - 1	2	1	1	50	96	68	11	260
			2	17	111	55	9	277
			3	35	106	61	8	273
			4	50	104	59	12	267
E - 1	3	1	1	67'5	97	52	26	226
			2	96	75	69	31	219
			3	100	-	-	-	-
			4	-	-	-	-	-
E - 1	3	2	1	100	-	-	-	-
			2	100	-	-	-	-
			3	100	-	-	-	-
			4	100	-	-	-	-
E - 2	1	1	1	34'5	106	60	9	272
			2	0	-	-	-	-
			3	0	-	-	-	-
			4	0	-	-	-	-
E - 2	1	2	1	0	-	-	-	-
			2	0	-	-	-	-
			3	0	-	-	-	-
			4	0	-	-	-	-
E - 2	2	1	1	45	95	56	19	254
			2	36	104	59	12	267
			3	29	105	62	8	272
			4	50	109	59	12	267
E - 2	2	2	1	0	-	-	-	-
			2	0	-	-	-	-
			3	0	-	-	-	-
			4	0	-	-	-	-
E - 2	3	1	1	92'5	61	78	36	200
			2	90'5	76	69	30	221
			3	100	-	-	-	-
			4	100	-	-	-	-
E - 2	3	2	1	100	-	-	-	-
			2	100	-	-	-	-
			3	100	-	-	-	-
			4	100	-	-	-	-
E - 3	1	1	1	38'5	83	76	16	222
			2	27'5	93	67	15	233
			3	50	56	67	22	239
			4	37	90	66	19	226
E - 3	1	2	1	45	76	75	21	230
			2	50	84	76	15	244
			3	50	53	66	26	232
			4	51	71	87	17	229
E - 3	2	1	1	80	65	63	27	193
			2	81	52	83	40	187
			3	90	53	67	55	173
			4	37	52	82	41	186
E - 4	1	1	1	50	84	73	18	241
			2	50	51	77	17	239
			3	50	53	56	16	232
			4	50	92	65	14	253
E - 4	1	2	1	50	99	62	14	260
			2	42'5	116	51	8	233
			3	52'5	100	63	24	239
			4	45	100	70	11	250
E - 5	1	1	1	31'5	111	52	12	274
			2	49	105	54	16	264
			3	50	105	57	9	275
			4	50	100	54	13	270
E - 5	1	2	1	50	96	70	9	262
			2	50	75	72	18	222
			3	50	105	54	16	264
			4	50	93	59	23	225

Coefficientes de regresión de Y = Quiasmas en 25 células sobre X = Índice (transformado en ángulos).

	Línea P(14)	Línea V(20)	Línea E(17)
P - 1	$b_{yx} = -1'2825$ $t = 6'6675***$	V - 1 $b_{yx} = -0'8488$ $t = 3'1702*$	E - 1 $b_{yx} = -1'1032$ $t = 6'258 ***$
P - 2	$b_{yx} = -1'1029$ $t = 2'9923 **$	V - 2 $b_{yx} = -1'2976$ $t = 7'3767***$	E - 2 $b_{yx} = -1'5375$ $t = 8'1543 ***$
P - 3	$b_{yx} = -1'3452$ $t = 8'6831 ***$	V - 3 $b_{yx} = -2'0307$ $t = 4'2647 *$	E - 3 $b_{yx} = -2'0612$ $t = 15'8897 ***$
P - 4	$b_{yx} = -0'4519$ $t = 1'7257$	V - 4 $b_{yx} = 0'5696$ $t = 3'5432 *$	E - 4 $b_{yx} = -0'7429$ $t = 1'0004$
P - 5	$b_{yx} = 1'0905$ $t = 4'975 ***$		E - 5 $b_{yx} = -3'8486$ $t = 1'0868$
	$b = -0'8769$ $t = 7'2417 ***$	$b = -0'960$ $t = 6'801 ***$	$b = 1'4096$ $t = 6'9828$

* = $0'01 < P < 0'05$
 ** = $0'001 < P < 0'01$
 *** = $P < 0'001$

CUADRO 5

Comparación de los coeficientes de regresión de las líneas P(14), V(20) y E(17)
mediante una prueba t.

	<u>t</u>	<u>G.l.</u>	
P - V	0'4458	103	$p > 0'05$
P - E	2'2623	116	$0'05 > p > 0'01$
V - E	1'326	81	$p > 0'05$

Coeficientes de regresión de Y = bivalentes cerrados en 25 células cerrados sobre X = Índice (transformado en ángulos)

	Línea P(14)		Línea V(20)		Línea E(17)
P - 1	$b_{yx} = -0'7795$ $t = 5'0228$ ***	V - 1	$b_{yx} = -0'6726$ $t = 2'9541$ *	E - 1	$b_{yx} = -0'6122$ $t = 4'6599$ ***
P - 2	$b_{yx} = -0'7295$ $t = 2'7352$ *	V - 2	$b_{yx} = 0'7733$ $t = 6'1091$ ***	E - 2	$b_{yx} = -0'9794$ $t = 7'4487$ ***
P - 3	$b_{yx} = -1'1079$ $t = 9'5653$ ***	V - 3	$b_{yx} = -1'1752$ $t = 2'9057$ *	E - 3	$b_{yx} = -1'0733$ $t = 9'2837$ ***
P - 4	$b_{yx} = -0'3816$ $t = 1'9333$	V - 4	$b_{yx} = -0'4353$ $t = 3'6239$ *	E - 4	$b_{yx} = -0'2352$ $t = -0'3902$
P - 5	$b_{yx} = -0'6483$ $t = 4'5964$ **			E - 5	$b_{yx} = -3'1384$ $t = 1'2239$
					$b_{yx} = -0'7735$ $t = 5'1501$ ***

* $0'01 < P < 0'05$
 ** $0'001 < P < 0'01$
 *** $P < 0'001$

Coefficientes de regresión de Y = bivalentes abiertos en 25 células sobre X = Índice (transformado en ángulos)

Línea P(14)		Línea V(20)		Línea E(17)	
P - 1	$b_{yx} = +0'2764$ $t = 2'382 *$	V - 1	$b_{yx} = +0'4965$ $t = 2'5471 *$	E - 1	$b_{yx} = +0'1212$ $t = 1'0554$
P - 2	$b_{yx} = +0'4433$ $t = 2'271 *$	V - 2	$b_{yx} = +0'249$ $t = 2'7337 *$	E - 2	$b_{yx} = +0'3714$ $t = 4'0451 **$
P - 3	$b_{yx} = +0'8706$ $t = 7'0019 ***$	V - 3	$b_{yx} = +0'3196$ $t = 0'7937$	E - 3	$b_{yx} = +0'0855$ $t = 0'4491$
P - 4	$b_{yx} = +0'2343$ $t = 1'3043$	V - 4	$b_{yx} = +0'3011$ $t = 2'9573 *$	E - 4	$b_{yx} = -0'2725$ $t = 0'5698$
P - 5	$b_{yx} = +0'2062$ $t = 1'6622$			E - 5	$b_{yx} = +2'4282$ $t = 1'1016$
	$b_{yx} = +0'3899$ $t = 5'6849 ***$		$b_{yx} = +0'3181$ $t = 3'964 ***$		$b_{yx} = +0'1374$ $t = 1'3753$

* = $0'01 < P < 0'05$

** = $0'001 < P < 0'01$

*** = $P < 0'001$

Coefficientes de regresión de Y = Pares de Univalentes en 25 células sobre X = Índice (Transformado en ángulos)

Línea P(14)		Línea V(20)		Línea E (17)	
P - 1	$b_{yx} = +0'503$ $t = 5'882$ ***	V - 1	$b_{yx} = +0'1762$ $t = 3'2201$ *	E - 1	$b_{yx} = +0'491$ $t = 7'0311$ ***
P - 2	$b_{yx} = +0'2862$ $t = 2'7092$	V - 2	$b_{yx} = +0'5243$ $t = 8'742$ ***	E - 2	$b_{yx} = +0'6081$ $t = 10'0456$ ***
P - 3	$b_{yx} = +0'2373$ $t = 3'5219$ *	V - 3	$b_{yx} = +0'8556$ $t = 4'8675$ **	E - 3	$b_{yx} = +0'9879$ $t = 8'6148$ ***
P - 4	$b_{yx} = +0'1088$ $t = 1'1906$	V - 4	$b_{yx} = +0'1343$ $t = 2'2285$	E - 4	$b_{yx} = +0'5077$ $t = 3'0992$ *
P - 5	$b_{yx} = +0'4422$ $t = 4'0673$ **			E - 5	$b_{yx} = +0'7102$ $t = 0'4873$
			$b_{yx} = +0'3209$ $t = 6'4917$ ***		$b_{yx} = +0'6361$ $t = 8'5049$ ***

* = $0'01 < P < 0'05$
 ** = $0'001 < P < 0'01$
 *** = $P < 0'001$

CUADRO 9

Línea P(16): Índice de cada antera y total de bivalentes cerrados, abiertos, pares de univalentes, quiasmas en brazo largo, quiasmas en brazo corto y quiasmas totales para el Cromosoma 3.

Planta	Espiga	Flor	Antera	Índice	Total células	Div. cerrados	Div. abierto largo unido	Div. abierto corto unido	Pares Univalentes	Q B.L.	Q D. C.	TOTAL Q
P-11	1	1	1	29'5	100	66	28	3	3	94	69	163
P-11	1	1	2	49'5	100	60	35	2	3	95	62	157
P-11	1	2	1	77'5	100	46	47	5	2	93	51	144
P-11	1	2	2	76	100	62	35	0	3	97	62	159
P-11	1	3	1	17'5	30	17	12	0	1	29	17	46
P-12	1	1	1	75'5	100	50	42	4	4	92	54	146
P-12	1	2	1	33'5	100	63	34	2	1	97	65	162
P-14	1	1	1	52	100	61	24	11	4	85	72	157
P-14	2	1	1	50	100	53	33	7	7	86	60	146
P-14	2	1	2	50	100	59	29	6	6	88	65	153
P-14	2	2	1	50	100	49	36	10	5	85	59	144
P-14	2	2	2	51	100	48	31	12	9	79	60	138
P-15	1	1	1	78	100	51	43	3	3	94	54	148
P-15	1	2	1	78'5	64	30	31	2	1	61	32	93
P-15	2	1	1	52	100	67	32	1	0	99	68	167
P-15	3	1	1	65	100	43	48	2	2	96	50	146
P-15	3	2	1	60	35	16	16	2	1	32	18	50
P-15	3	2	2	55'5	100	63	43	2	2	96	55	151
P-15	4	1	1	50	100	52	45	0	3	97	52	149
P-16	1	2	1	51	100	57	37	1	5	94	58	152
P-16	1	2	2	50	100	60	32	4	4	92	64	156
P-16	2	1	1	63	100	55	34	4	7	89	59	148
P-16	2	1	2	62	100	68	24	4	4	92	72	164
P-16	2	2	1	44'5	100	68	26	5	1	94	73	167
P-25	1	1	1	51	100	64	32	1	3	96	65	161
P-25	1	2	1	50	100	65	31	1	3	96	66	162
TOTAL					2429	1368	860	94	87	2248	1482	3730
Probabilidad/ par de cromosomas						0'571	0'354	0'039	0'036	0'925	0'610	1'535

CUADRO 10

Línea P(16): Índice de cada antera y total de bivalentes cerrados, abiertos, pares de univalentes, quiasmas en brazo largo, quiasmas en brazo corto y quiasmas totales para el Cromosoma 5.

Planta	Espiga	Flor	Antera	Índice	Total Células	Biv. cerrados	Biv.abierto largo unido	Biv.abierto corto unido	Pares Univalentes	Q B. L.	Q B. C.	Total
P-11	1	1	1	29'5	100	25	67	3	5	92	28	120
P-11	1	1	2	49'5	100	29	65	1	5	94	30	124
P-11	1	2	1	77'5	100	30	59	1	10	89	31	120
P-11	1	2	2	76	100	29	59	2	10	88	31	119
P-11	1	3	1	17'5	30	4	24	1	1	28	5	33
P-12	1	1	1	75'5	100	11	73	3	13	84	14	98
P-12	1	2	1	33'5	100	32	58	2	8	90	34	124
P-14	1	1	1	52	100	18	69	2	11	87	20	107
P-14	2	1	1	50	100	29	62	1	8	91	30	121
P-14	2	1	2	50	100	27	65	1	7	92	28	120
P-14	2	2	1	50	100	19	68	3	10	87	22	109
P-14	2	2	2	51	100	31	57	3	9	88	34	122
P-15	1	1	1	78	100	18	72	3	7	90	21	111
P-15	1	2	1	78'5	64	15	43	1	5	58	16	74
P-15	2	1	1	52	100	26	68	0	6	94	26	120
P-15	3	1	1	65	100	21	66	3	10	87	24	111
P-15	3	2	1	60	35	15	18	0	2	33	15	48
P-15	3	2	2	55'5	100	19	74	0	7	93	19	112
P-15	4	1	1	50	100	19	73	1	7	92	20	112
P-16	1	2	1	51	100	43	52	2	3	95	45	140
P-16	1	2	2	50	100	33	60	1	6	93	34	12
P-16	2	1	1	63	100	22	69	3	6	91	25	11
P-16	2	1	2	62	100	17	76	2	5	93	19	11
P-16	2	2	1	44'5	100	38	57	2	3	95	40	13
P-25	1	1	1	51	100	27	66	1	6	93	28	121
P-25	1	2	1	50	100	25	68	1	6	93	26	11
TOTAL					2429	622	1588	43	176	2210	665	287

Probabilidad/
par de cromosomas

0'256 0'654 0'018 0'073 0'910 0'274 1'1

CUADRO 11

Línea P(16):Índice de cada antera y total de bivalentes cerrados, abiertos, pares de univalentes, quiasmas en brazo largo, quiasmas en brazo corto y quiasmas totales para el Cromosoma 6.

Planta	Espiga	Flor	Antera	Índice	Total Células	Biv. Cerrados	Biv.abierto largo unido	Biv.abierto corto unido	Pares Univalentes	Q B. L.	Q B. C.	Total Q
P-11	1	1	1	29'5	100	87	9	3	1	96	90	186
P-11	1	1	2	49'5	100	86	8	4	2	94	90	184
P-11	1	2	1	77'5	100	70	19	9	2	89	79	168
P-11	1	2	2	76	100	73	11	10	6	84	83	167
P-11	1	3	1	17'5	30	25	3	2	0	28	27	55
P-12	1	1	1	75'5	100	87	11	2	0	98	89	187
P-12	1	2	1	33'5	100	87	9	4	0	96	91	187
P-14	1	1	1	52	100	66	31	1	2	97	67	164
P-14	2	1	1	50	100	68	30	1	1	98	69	167
P-14	2	1	2	50	100	64	34	1	1	98	65	163
P-14	2	2	1	50	100	63	34	1	2	97	64	161
P-14	2	2	2	51	100	53	44	1	2	97	54	151
P-15	1	1	1	78	100	35	57	3	5	92	38	130
P-15	1	2	1	78'5	64	13	47	0	4	60	13	73
P-15	2	1	1	52	100	44	55	0	1	99	44	143
P-15	3	1	1	65	100	35	63	0	2	98	35	133
P-15	3	2	1	60	35	14	19	1	1	33	15	48
P-15	3	2	2	55'5	100	29	69	0	2	98	29	127
P-15	4	1	1	50	100	24	74	0	2	98	24	122
P-16	1	2	1	51	100	93	5	2	0	98	95	193
P-16	1	2	2	50	100	94	3	2	1	97	96	193
P-16	2	1	1	63	100	82	17	0	1	99	82	181
P-16	2	1	2	62	100	86	14	0	0	100	86	186
P-16	2	2	1	44'5	100	90	9	1	0	99	91	190
P-25	1	1	1	51	100	84	8	7	1	92	91	183
P-25	1	2	1	50	100	90	7	3	0	97	93	190
TOTAL					2429	1642	690	58	39	2332	1700	4032

Probabilidad/
par de cromosomas 0'676 0'284 0'024 0'016 0'960 0'700 1'660

Línea P(16): Índice de cada antera y total de bivalentes cerrados, abiertos, pares de univalentes, quiasmas en brazo largo, quiasmas en brazo corto y quiasmas totales para el Cromosoma 7.

Planta	Espiga	Flor	Antera	Índice	Total células	Biv. cerrado	Biv. abierto largo unido	Biv. abierto corto unido	Pares Univalentes	Q B. L.	Q B. C.	TOTAL Q
P-11	1	1	1	29'5	100	45	41	10	4	86	55	141
P-11	1	1	2	49'5	100	49	28	14	9	77	63	140
P-11	1	2	1	77'5	100	39	37	12	12	76	51	127
P-11	1	2	2	76	100	40	40	13	7	80	53	133
P-11	1	3	1	17'5	30	14	13	2	1	27	16	43
P-12	1	1	1	75'5	100	26	38	16	20	64	42	106
P-12	1	2	1	33'5	100	45	35	10	10	80	55	135
P-14	1	1	1	52	100	35	42	11	12	77	46	123
P-14	2	1	1	50	100	32	46	11	11	78	43	121
P-14	2	1	2	50	100	45	33	13	9	78	58	136
P-14	2	2	1	50	100	47	35	9	9	82	56	138
P-14	2	2	2	51	100	51	33	6	10	84	57	141
P-15	1	1	1	78	100	38	40	10	12	78	48	126
P-15	1	2	1	78'5	64	24	24	5	11	48	29	77
P-15	2	1	1	52	100	55	27	13	5	82	68	150
P-15	3	1	1	65	100	35	32	6	27	67	41	108
P-15	3	2	1	60	35	18	13	2	2	31	20	51
P-15	3	2	2	55'5	100	47	31	8	14	78	55	133
P-15	4	1	1	50	100	42	35	13	10	77	55	132
P-16	1	2	1	51	100	57	27	10	6	84	67	151
P-16	1	2	2	50	100	47	35	10	8	82	57	139
P-16	2	1	1	63	100	48	33	12	7	81	60	141
P-16	2	1	2	62	100	52	21	19	8	73	71	144
P-16	2	2	1	44'5	100	51	22	21	6	73	72	145
P-25	1	1	1	51	100	49	36	12	3	85	61	146
P-25	1	2	1	50	100	55	30	8	7	85	63	148
TOTAL					2429	1086	827	276	240	1913	1362	3275
Probabilidad/ par de cromosomas						0'447	0'340	0'114	0'099	0'737	0'561	1'348

Línea P(16): Índice de cada antera y total de bivalentes cerrados, abiertos, pares de univalentes y quiasmas para el resto de los cromosomas.

Planta	Espiga	Flor	Antera	Índice	Total células	Biv. cerrados	Biv. abiertos	Pares Univalentes	Total Quiasmas
P-11	1	1	1	29'5	100	201	89	10	491
P-11	1	1	2	49'5	100	195	98	7	488
P-11	1	2	1	77'5	100	185	93	22	463
P-11	1	2	2	76	100	171	100	29	442
P-11	1	3	1	17'5	30	58	27	5	143
P-12	1	1	1	75'5	100	155	113	32	423
P-12	1	2	1	33'5	100	196	95	9	487
P-14	1	1	1	52	100	179	106	15	464
P-14	2	1	1	50	100	195	94	11	484
P-14	2	1	2	50	100	196	99	5	491
P-14	2	2	1	50	100	195	94	11	484
P-14	2	2	2	51	100	194	95	11	483
P-15	1	1	1	78	100	190	95	15	475
P-15	1	2	1	78'5	64	102	77	13	281
P-15	2	1	1	52	100	210	85	5	505
P-15	3	1	1	65	100	175	104	21	454
P-15	3	2	1	60	35	75	26	4	176
P-15	3	2	2	55'5	100	194	91	15	479
P-15	4	1	1	50	100	187	103	10	477
P-16	1	2	1	51	100	186	99	15	471
P-16	1	2	2	50	100	198	90	12	486
P-16	2	1	1	63	100	154	117	29	425
P-16	2	1	2	62	100	200	87	13	487
P-16	2	2	1	44'5	100	195	94	11	484
P-25	1	1	1	51	100	197	96	7	490
P-25	1	2	1	50	100	216	81	3	513
TOTAL					2429	4599	2348	340	11546
Probabilidad/ par de cromosomas						0'631	0'322	0'047	1'584

Línea P(16): Índice de cada antera y total de bivalentes cerrados, abiertos, pares de univalentes y quiasmas para el total de cromosomas.

Planta	Espiga	Flor	Antera	Índice	Total Células	Biv. cerrados	Biv. abiertos	Pares Univalentes	Total Quiasmas
P-11	1	1	1	29'5	100	424	253	23	1101
P-11	1	1	2	49'5	100	419	255	26	1093
P-11	1	2	1	77'5	100	370	282	48	1022
P-11	1	2	2	76	100	375	270	55	1020
P-11	1	3	1	17'5	30	118	84	8	320
P-12	1	1	1	75'5	100	329	302	69	960
P-12	1	2	1	33'5	100	423	249	28	1095
P-14	1	1	1	52	100	359	297	44	1015
P-14	2	1	1	50	100	377	285	38	1039
P-14	2	1	2	50	100	391	281	28	1063
P-14	2	2	1	50	100	373	290	37	1036
P-14	2	2	2	51	100	377	282	41	1036
P-15	1	1	1	78	100	332	326	42	990
P-15	1	2	1	78'5	64	184	230	34	598
P-15	2	1	1	52	100	402	281	17	1085
P-15	3	1	1	65	100	315	322	63	952
P-15	3	2	1	60	35	138	97	10	373
P-15	3	2	2	55'5	100	342	318	40	1002
P-15	4	1	1	50	100	324	344	32	992
P-16	1	2	1	51	100	436	235	29	1107
P-16	1	2	2	50	100	432	237	31	1101
P-16	2	1	1	63	100	361	289	50	1011
P-16	2	1	2	62	100	423	247	30	1093
P-16	2	2	1	44'5	100	442	237	21	1121
P-25	1	1	1	51	100	421	259	20	1101
P-25	1	2	1	50	100	451	230	19	1132
TOTAL					2429	9938	6782	883	25453
Probabilidad/ par de cromosomas						0'549	0'399	0'052	1'497

C U A D R O 15

Coefficientes de regresión de Y = Quiasmas en 100 células sobre X = Índice (transformado en ángulos). Línea P(16).

Cromosoma 3	Brazo largo	$byx = + 0'0314$	$t = 0'222$
	Brazo corto	$byx = - 0'5834$	$t = 2'9313$ **
Cromosoma 5	Brazo largo	$byx = - 0'1787$	$t = 2'3691$ *
	Brazo corto	$byx = - 0'3392$	$t = 1'7467$
Cromosomas : 6	Brazo largo	$byx = - 0'2204$	$t = 2'3205$ *
	Brazo corto	$byx = - 0'6035$	$t = 0'9229$
Cromosoma 7	Brazo largo	$byx = - 0'3515$	$t = 2'5582$ *
	Brazo corto	$byx = - 0'4119$	$t = 1'7663$
Resto		$byx = - 1'8362$	$t = 3'6879$ **
Total de cromosomas		$byx = - 4'3948$	$t = 3'7407$ ***

* = $0'01 < P < 0'05$

** = $0'001 < P < 0'01$

*** = $P < 0'001$

Comparación de las frecuencias de quiasmas entre los distintos brazos de cromosomas reconocibles.

		$\bar{X} = Q / \text{cel en brazo cormosómico}$						
Anteras con I = 50		3C	5L	5C	6L	6C	7L	7C
P ₁₄ E ₂ F ₁ A ₁		0,86	0,91	0,30	0,98	0,69	0,73	0,43
P ₁₄ E ₂ F ₁ A ₂		0,88	0,92	0,28	0,98	0,65	0,73	0,58
P ₁₄ E ₂ F ₂ A ₁		0,85	0,87	0,22	0,97	0,64	0,82	0,56
P ₁₅ E ₄ F ₁ A ₁		0,97	0,92	0,20	0,98	0,24	0,77	0,55
P ₁₆ E ₁ F ₂ A ₂		0,92	0,64	0,93	0,97	0,96	0,82	0,57
P ₂₅ E ₁ F ₂ A ₁		0,96	0,66	0,93	0,26	0,97	0,85	0,63
\bar{X}		0,9067	0,61	0,9133	0,2667	0,975	0,8033	0,5533
Longitud relativa		7,995	6,442	9,681	4,845	9,616	4,849	8,151
								5,625
3 C	3 C	5 C	6 C	7 C	3 L	5 L	6 L	7 L
		t=11,4646	t=0,6939	t=1,6437	t=9,9454			
		**			***			
5 C		t=3,8716	t=8,3433			t=28,1753		
		**	***			***		
6 C			t=1,2039			t=2,7358		
						*		
7 L								t=10,5659

3 L						t=0,2894		t=4,8564
						**		***
5 L						t=6,5038		t=11
						***		***
6 L								t=35,5453

7 L								

* 0,05 > P > 0,01
 ** 0,01 > P > 0,001
 *** P < 0,001

Comparación entre frecuencias observadas (totales) de bivalentes cerrados, abiertos y pares de univalentes y frecuencias esperadas en el supuesto de que no exista interferencia a través del centrómero.

C R O M O S O M A

	3			5			6			7		
	OBS.	ESP.		OBS.	ESP.		OBS.	ESP.		OBS.	ESP.	
Cerrados	1.388	1.372'045		622	605'647		1.642	1.632'283		1.086	1.073'783	
Abiertos (largo unido)	360	877'209		1.588	1.604'743		690	699'552		327	840'269	
Abiertos (corto unido)	94	109'645		43	59'899		58	68'012		276	288'336	
Pares de univalentes	37	70'101		176	158'711		39	29'148		240	226'062	
χ^2 $g1 = 1$	6'829			7'267			4'992			1'783		
Interferencia	0'01 > P > 0'001			0'01 > P > 0'001			0'05 > P > 0'01			0'20 > P > 0'10		
	Negativa			Negativa			Negativa			-		

Comparación entre frecuencias observadas de bivalentes cerrados, abiertos y pares de univalentes en anteras con un valor de índice inferior a 47'15 (Metafases tempranas) y frecuencias esperadas en el supuesto de que no exista interferencia a través del centrómero.

CRÓMOSOMA

	3		5		6		7	
	OBS.	ESP.	OBS.	ESP.	OBS.	ESP.	OBS.	ESP.
Cerrados	214	213'315	99	98'794	289	289'114	155	159'588
Abiertos (largo unido)	100	100'845	206	206'126	30	29'996	111	106'392
Abiertos (corto unido)	10	10'755	8	8'126	10	9'866	43	38'412
Pares de univalentes	6	5'085	17	16'954	1	1'024	21	25'603
χ^2	0'227		0'003		-		1'709	
g.l. = 1	0'70 > P > 0'50		0'98 > P > 0'95		-		0'20 > P > 0'10	
INTERFERENCIA	-		-		-		-	

Comparación entre frecuencias observadas de bivalentes cerrados, abiertos y pares de univalentes en anteras con un valor de índice comprendido entre 47'5 y 52'5 (Metafase medias) y frecuencias esperadas en el supuesto de que no exista interferencia a través del centrómero.

CROMOSOMA

	3	5	6	7
	OBS.	ESP.	OBS.	ESP.
Cerrados	695	683'592	326	314'371
Abiertos (largo unido)	397	408'408	773	784'829
Abiertos (Corto unido)	56	67'608	17	28'829
Pares de Univalentes	52	40'392	84	71'971
			15	11'136
				99
				96'722
χ^2 g.l. = 1	5'838	7'473	2'074	0'132
	0'05 > P > 0'01	0'01 > P > 0'001	0'20 > P > 0'10	0'80 > P > 0'70
Interferencia	Negativa	Negativa	-	-

Comparación entre frecuencias observadas de bivalentes cerrados, abiertos y pares de univalentes en anteras con un valor de índice superior a 52'7 (Metafasas tardías) y frecuencias esperadas en el supuesto de que no exista interferencia a través del centrómero.

	CROMOSOMA							
	3		5		6		7	
	OBS.	ESP.	OBS.	ESP.	OBS.	ESP.	OBS.	ESP.
Cerrados	479	475'093	197	192'1730	524	520'177	367	353'573
Abiertos (largo unido)	363	367'270	609	613'673	327	331'176	309	322'475
Abiertos (Corto unido)	28	31'943	18	22'131	25	29'112	103	116'604
Pares de Univalentes	29	24'694	75	70'466	23	18'535	120	106'348
χ^2 g. l. = 1	1'319		1'193		1'737		4'413	
Interferencia	0'30 > P > 0'20		0'30 > P > 0'20		0'20 > P > 0'10		0'05 > P > 0'01	
	-		-		-		Negativa	

C U A D R O 21

Coefficientes de regresión entre las frecuencias de quiasmas en 100 células de cada antera de los brazos cortos sobre las frecuencias de quiasmas de los brazos largos.

<u>X</u>	<u>Y</u>	<u>b</u>	<u>t</u>	<u>g.l.</u>
3 L	3 C	- 0'0915	0'3062	21
5 L	5 C	+ 1'1799	2'3529 *	21
6 L	6 C	- 0'9145	0'6699	21
7 L	7 C	+ 0'6293	1'9774	21

* $0'05 > P > 0'01$

CUADRO 22

Coeficientes de regresión de las frecuencias de quiasmas en 100 células de cada
 antera de los cromosomas Y sobre las frecuencias de quiasmas de los cromosomas X.

<u>X</u>	<u>Y</u>	<u>b</u>	<u>t</u>	<u>gl</u>
3	5	+ 1'1799	1'9336	21
3	6	+ 0'3727	1'6459	21
3	7	+ 0'7838	2'8555 **	21
5	6	+ 1'0949	2'1617 *	21
5	7	+ 0'8629	3'8867 **	21
6	7	+ 0'1807	1'6934	21

Número de quiasmas en el grupo de cromosomas reconocibles

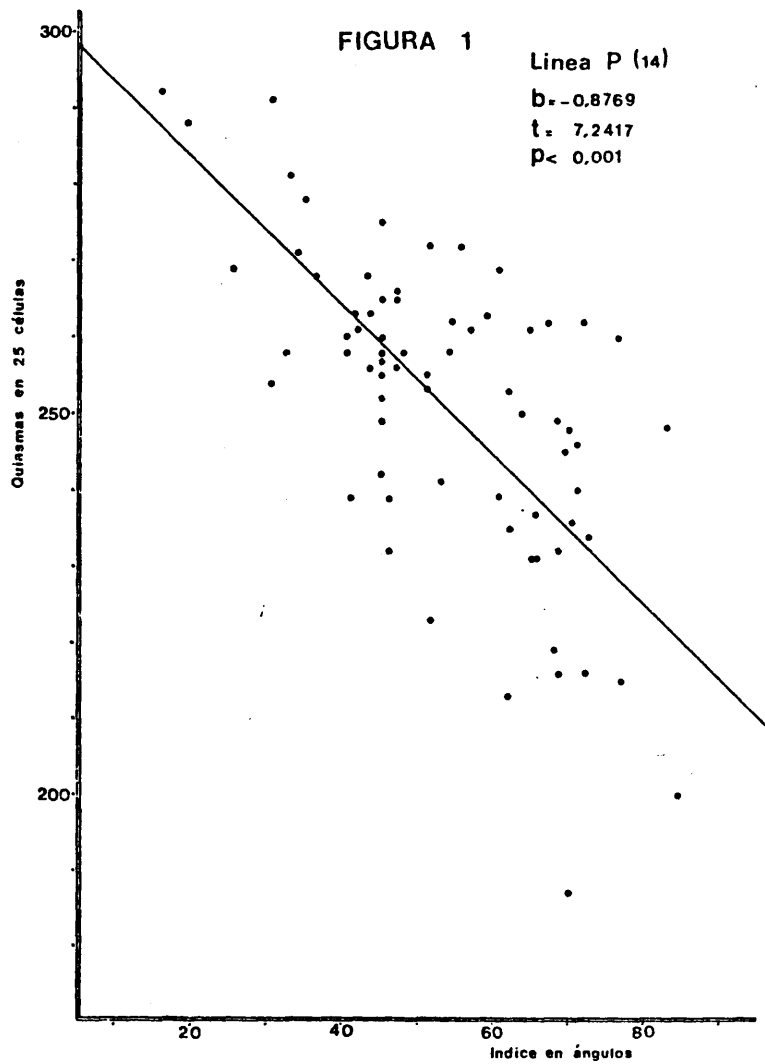
6	33	3	7	6	5	4	3 o menos	Nº de células
</								

() = valores esperados $\chi^2 = 11'6133$, $gl = 15$, $0'75 > P > 0'50$

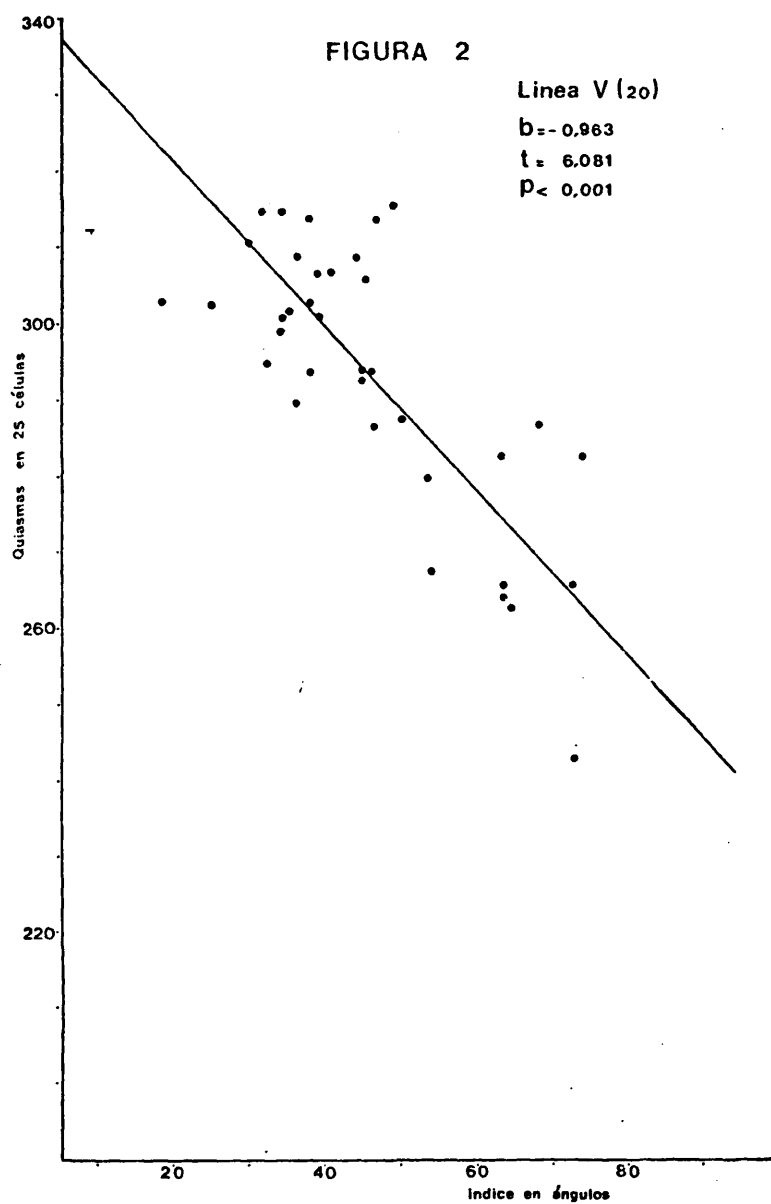
C U A D R O 24

Puentes y fragmentos en Anafase I en 901 células.

<u>Brazo Cromosómico</u>	<u>Puentes sin fragmento</u>	<u>Puentes con fragmento</u>	<u>Total de puentes</u>
7 L	2	51	53
7 C	21	21	42
3 L	7	6	13
3 C	3	22	25
6 L	10	7	17
6 C	3	9	12
Resto.	84	80	164
			<hr/> 326



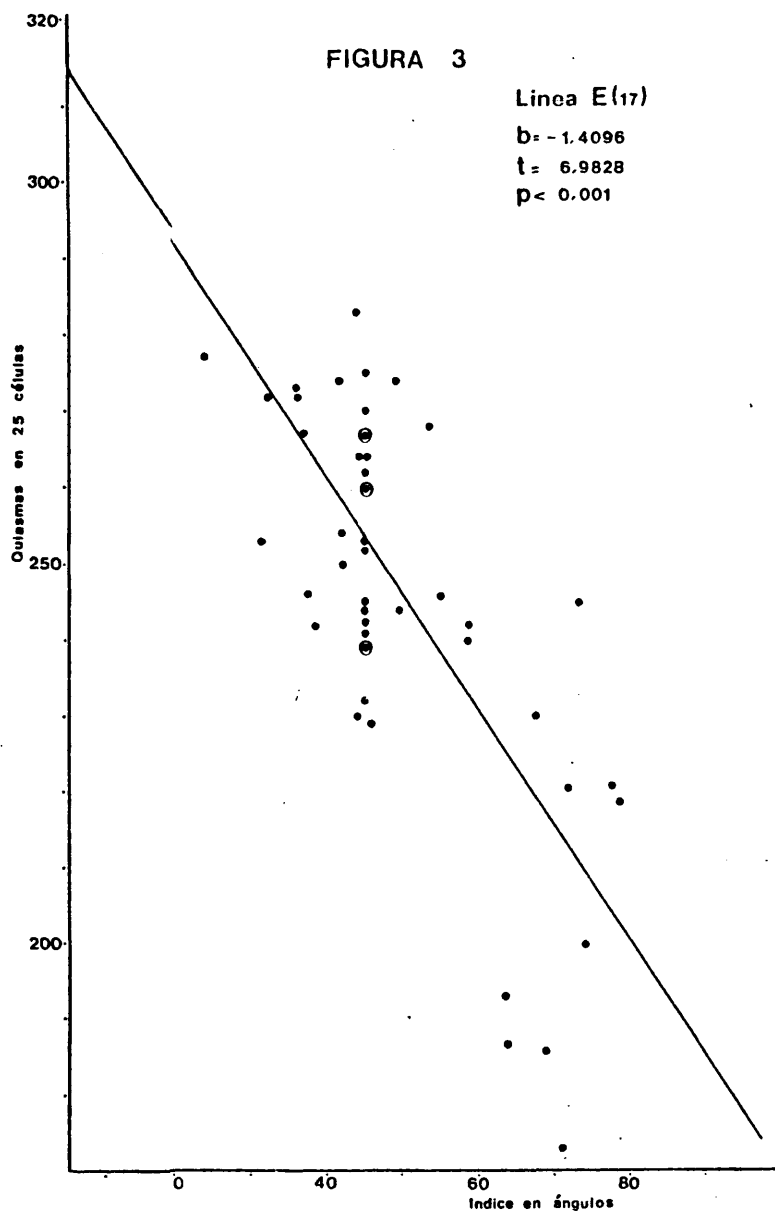
Regresión lineal del número de quiasmas en 25 células sobre el valor índice (transformado en ángulos) de cada saco. Línea P (14).



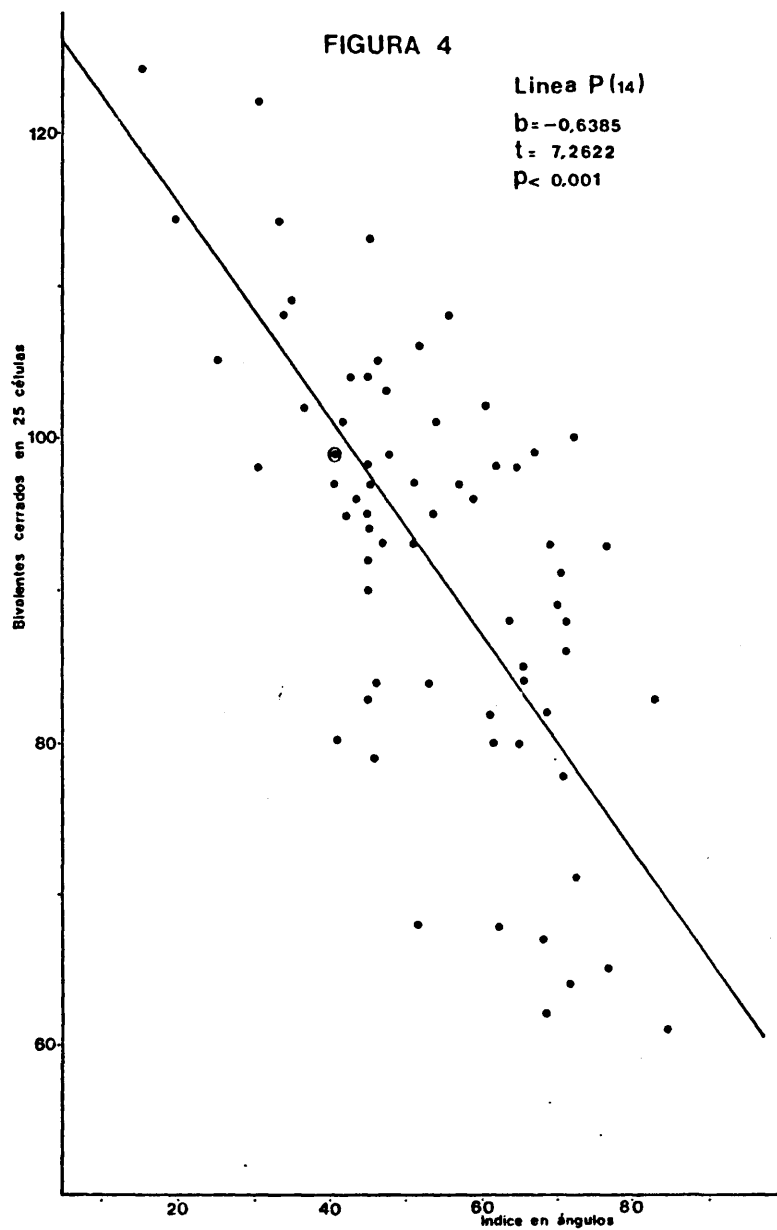
Regresión lineal del número de quiasmas en 25 células sobre el valor índice (transformado en ángulos) de cada saco. Línea V(20).

FIGURA 3

Linea E (17)

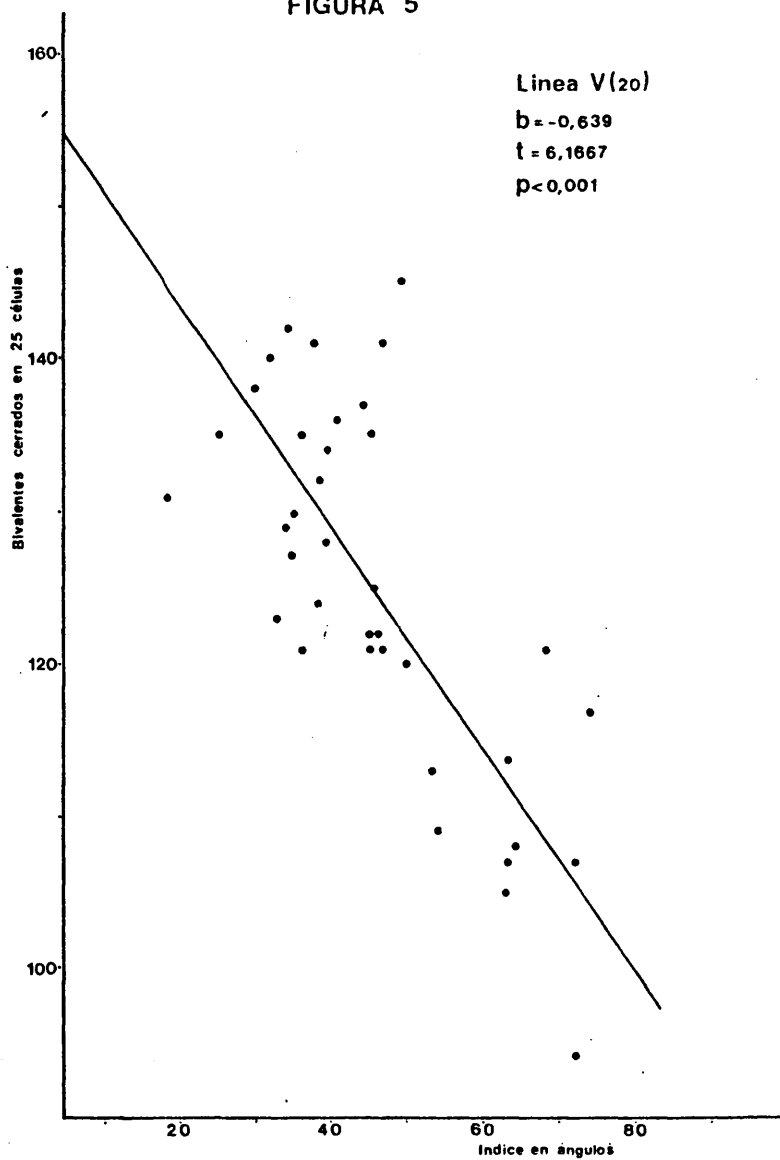
 $b = -1.4096$ $t = 6.9828$ $p < 0.001$ 

Regresión lineal del número de quiasmas en 25 células sobre el valor índice (transformado en ángulos) de cada saco. Línea E (17).

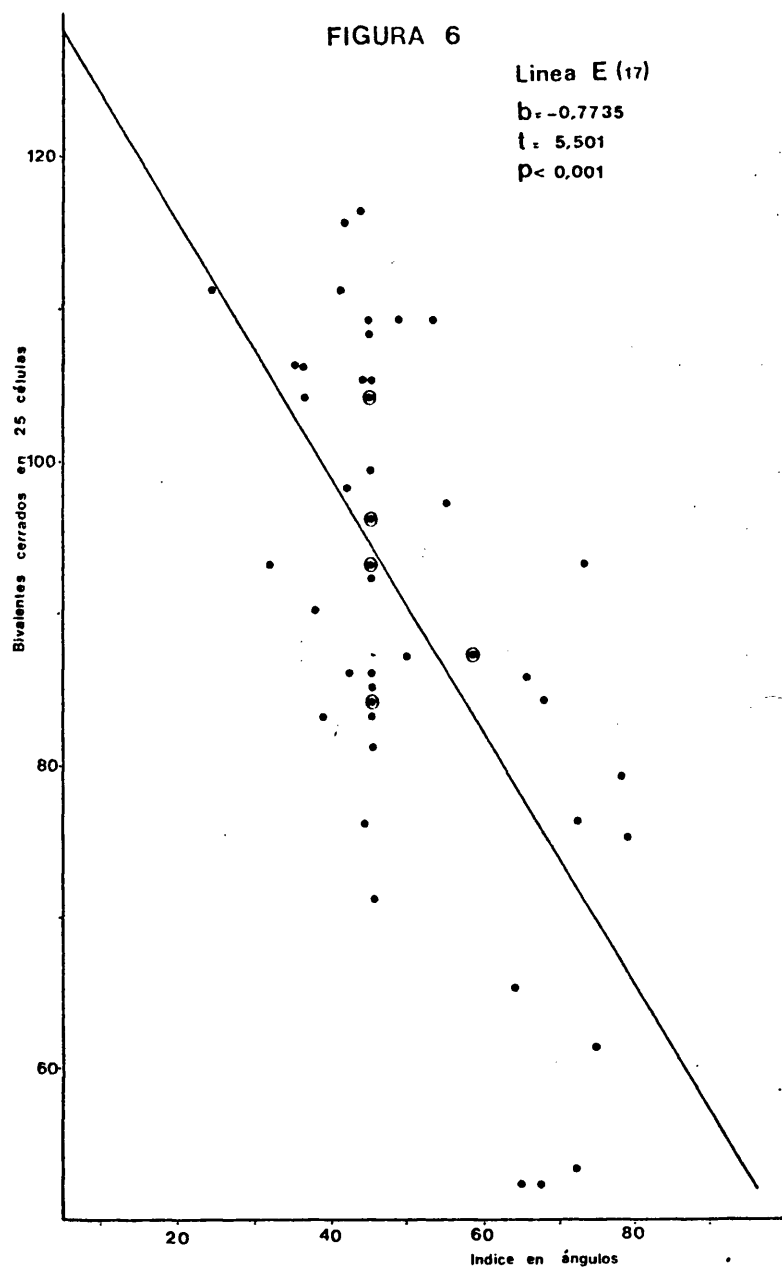


Regresión lineal del número de bivalentes cerrados en 25 células sobre el valor índice (transformado en ángulos) de cada saco. Línea P(14).

FIGURA 5

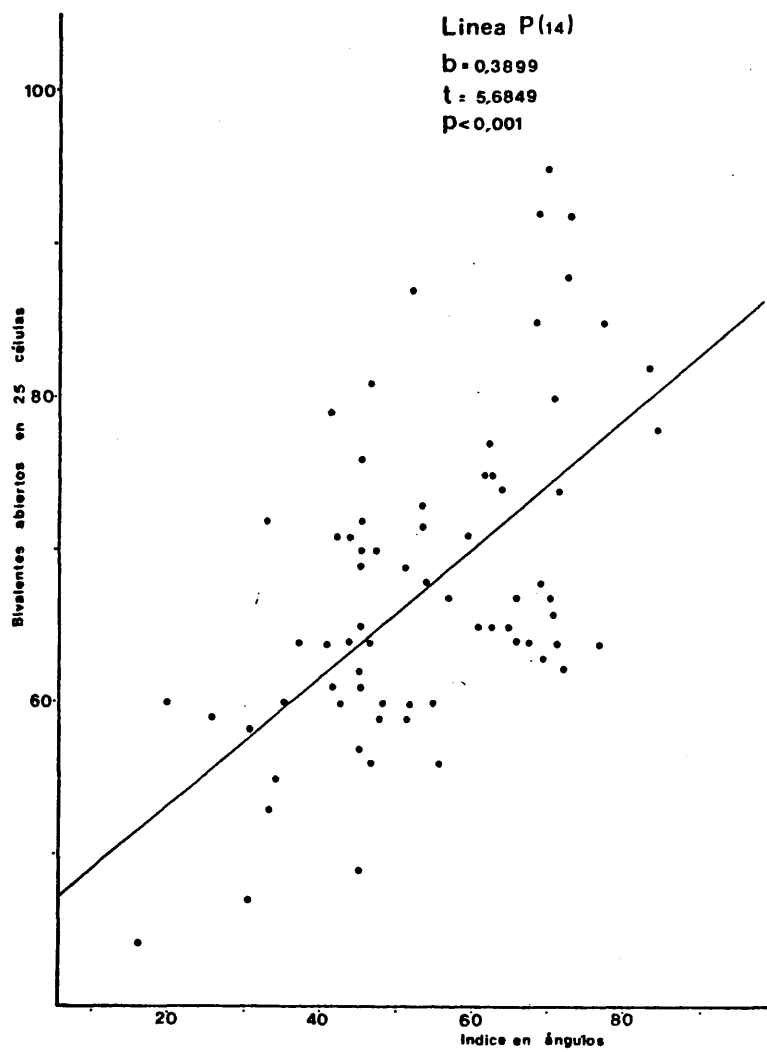


Regresión lineal del número de bivalentes cerrados en 25 células sobre el valor índice (transformado en ángulos) de cada saco. Línea V(20).



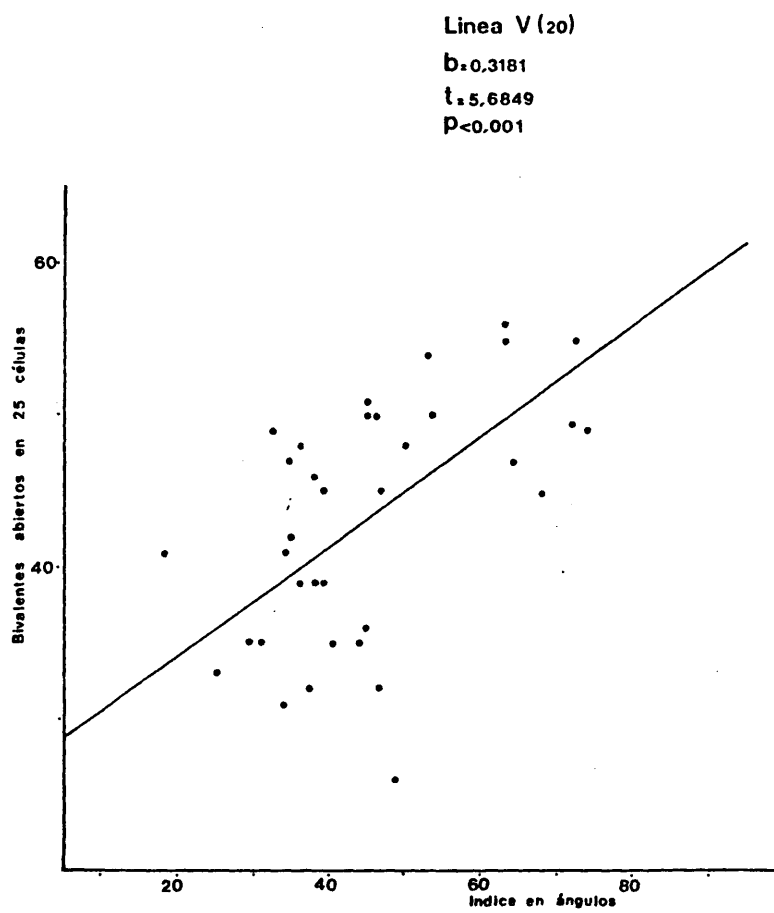
Regresión lineal del número de bivalentes cerrados en 25 células sobre el valor índice (transformado en ángulos) de cada saco. Línea E(17).

FIGURA 7



Regresión lineal del número de bivalentes abiertos en 25 células sobre el valor índice (transformado en ángulos) de cada saco. Línea P(14).

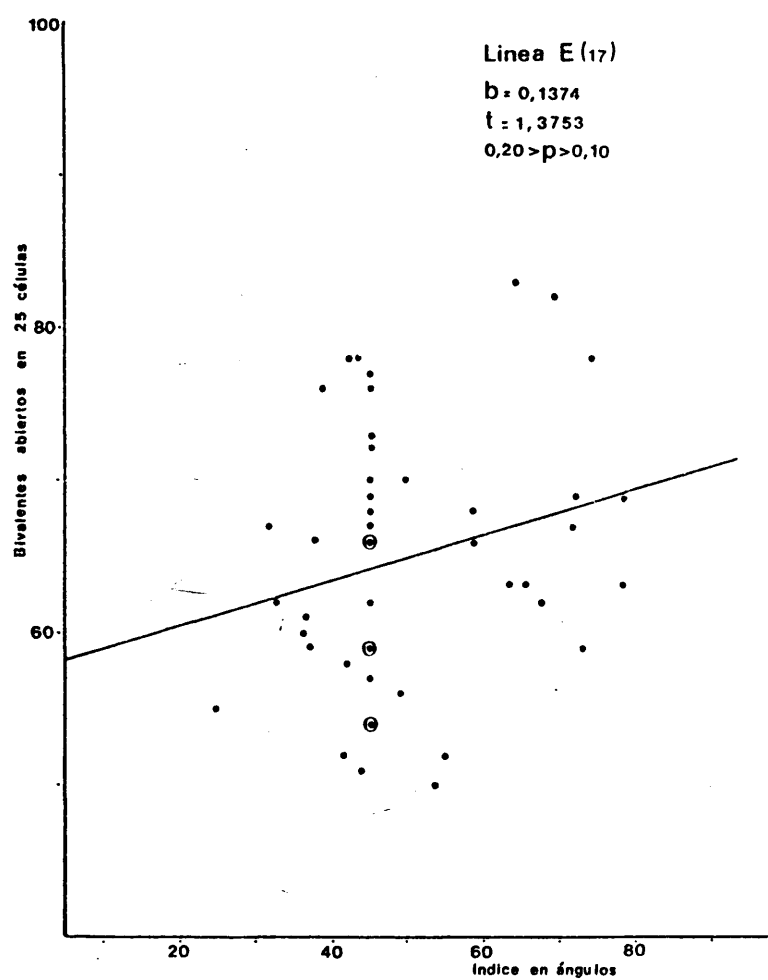
FIGURA 8



Regresión lineal del número de bivalentes abiertos en 25 células sobre el valor índice (transformado en ángulos) de cada saco. Línea V(20).

FIGURA 9

77

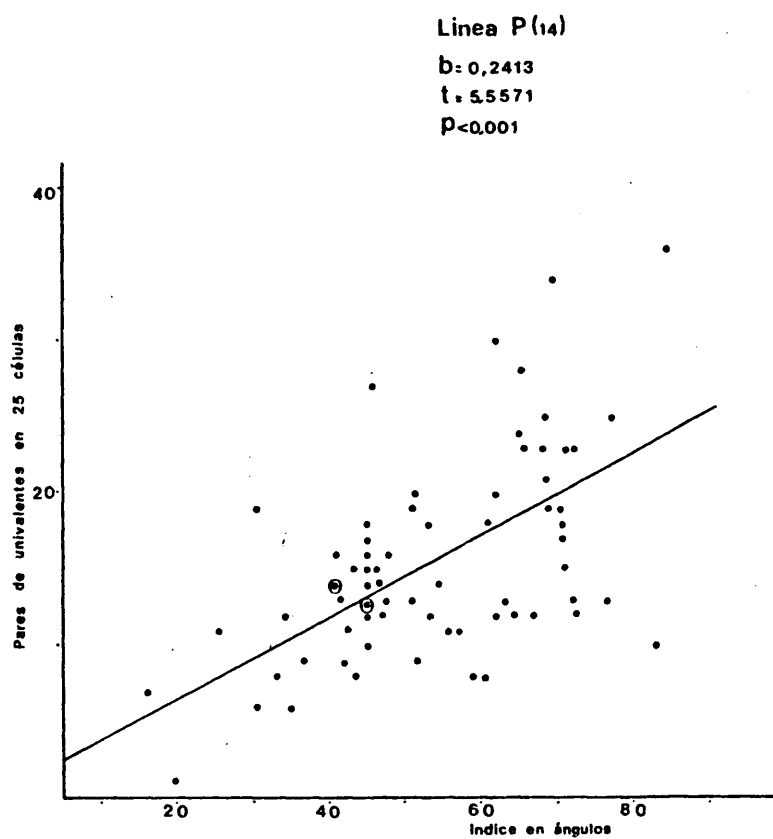


Regresión lineal del número de bivalentes abiertos en 25 células sobre el valor índice (transformado en ángulos) de cada saco. Línea E(17).



BIBLIOTECA

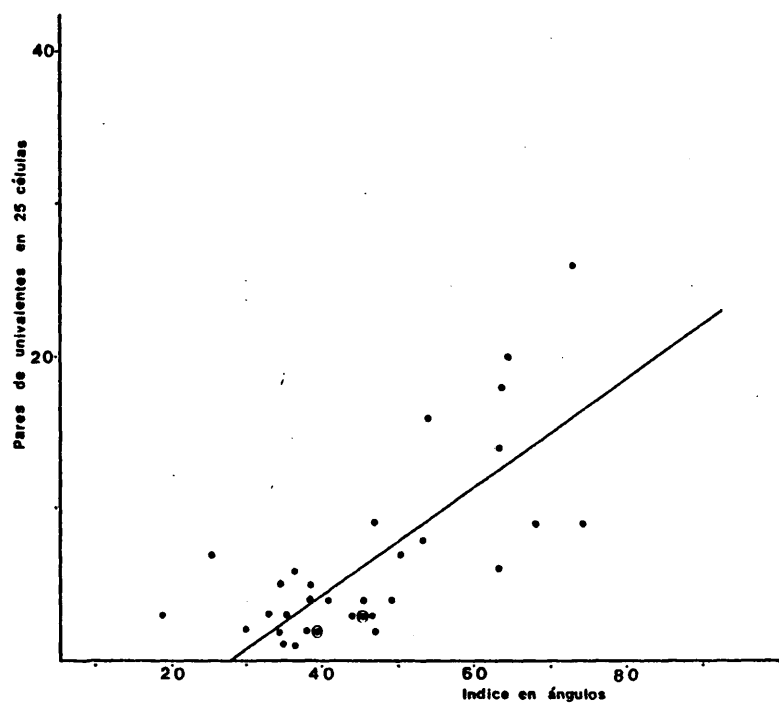
FIGURA 10



Regresión lineal del número de pares de univalentes en 25 células sobre el valor índice (transformado en ángulos) de cada saco. Línea P(14).

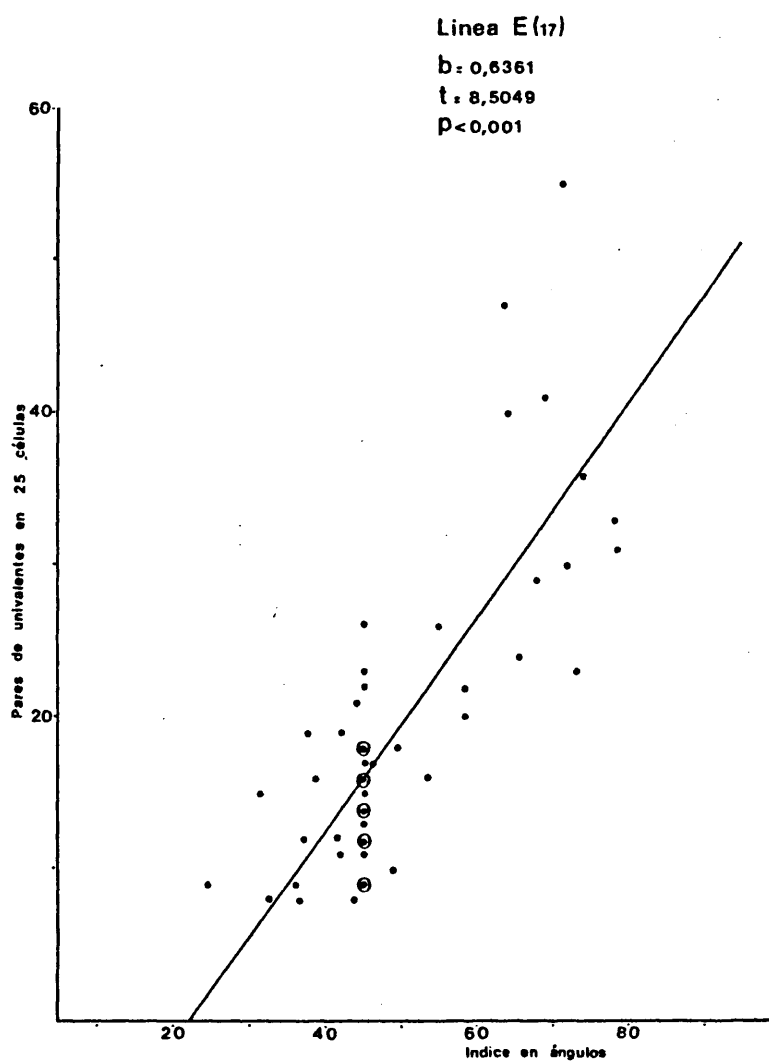
FIGURA 11

Linea V(20)

 $b = 0,3209$ $t = 6,4917$ $p < 0,001$ 

Regresión lineal del número de pares de univalentes en 25 células sobre el valor índice (transformado en ángulos) de cada saco. Línea V(20).

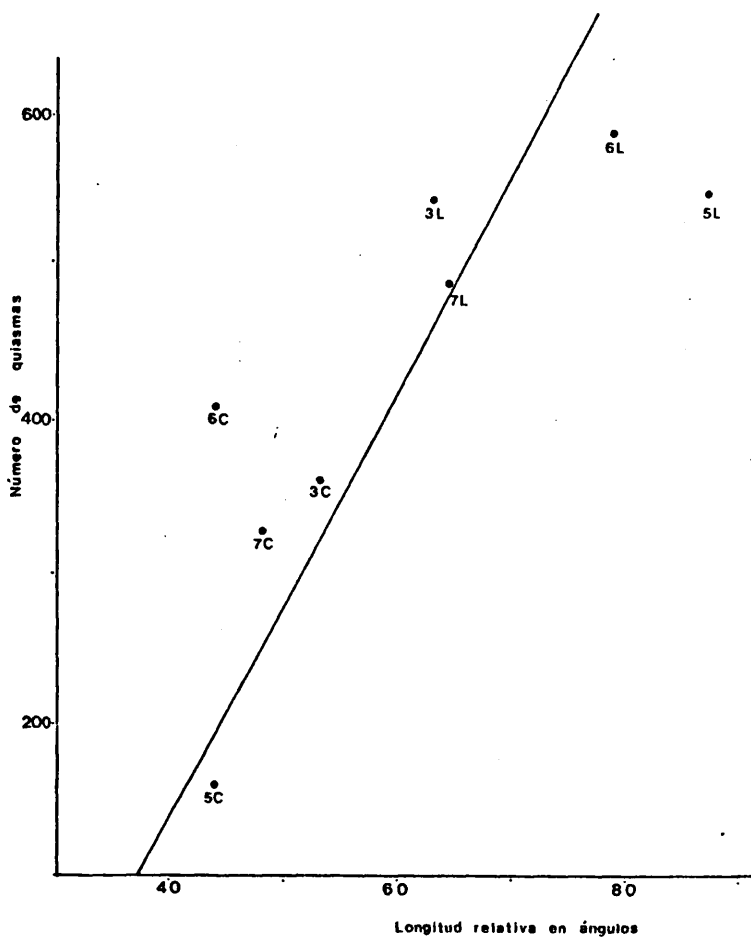
FIGURA 12



Regresión lineal del número de pares de univalentes en 25 células sobre el valor índice (transformado en ángulos) de cada saco. Línea E(17).

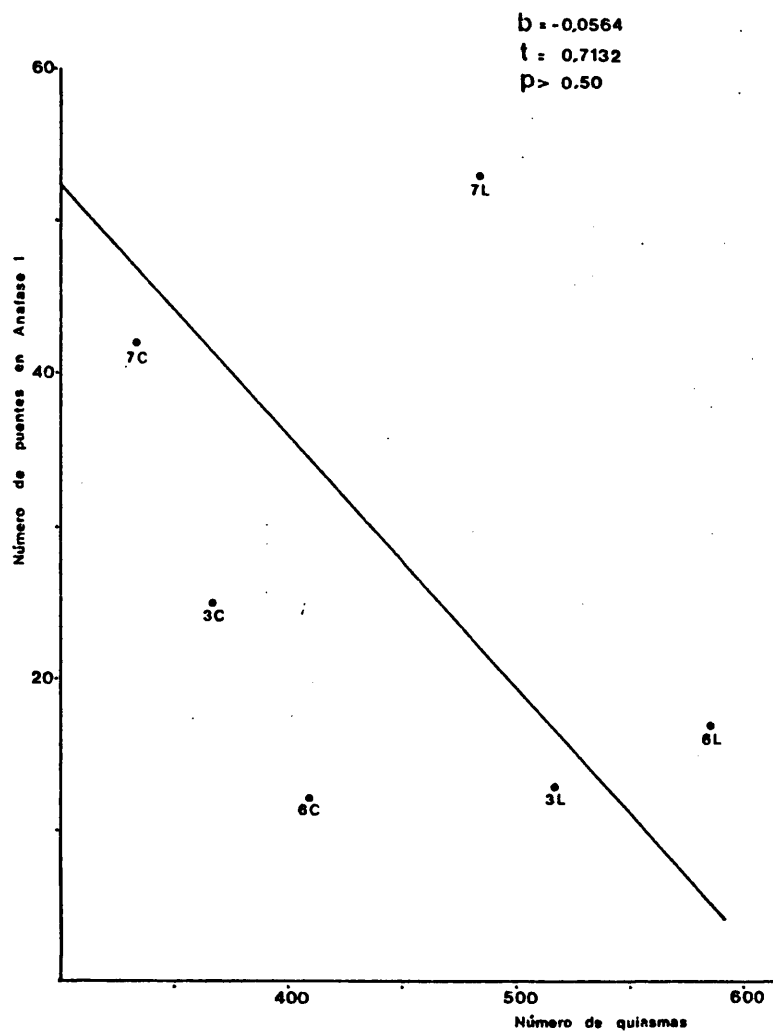
FIGURA 13

$b = 7,1228$
 $t = 5,1057$
 $p < 0,01$



Regresión lineal del número de quiasmas sobre la longitud relativa (transformada en ángulos) de cada par de brazos cromosómicos reconocibles en Metáfase I.

FIGURA 14



Regresión lineal del número de puentes en Anafase I sobre el número de cuadrantes de cada par de brazos cromosómicos reconocibles en Anafase I.

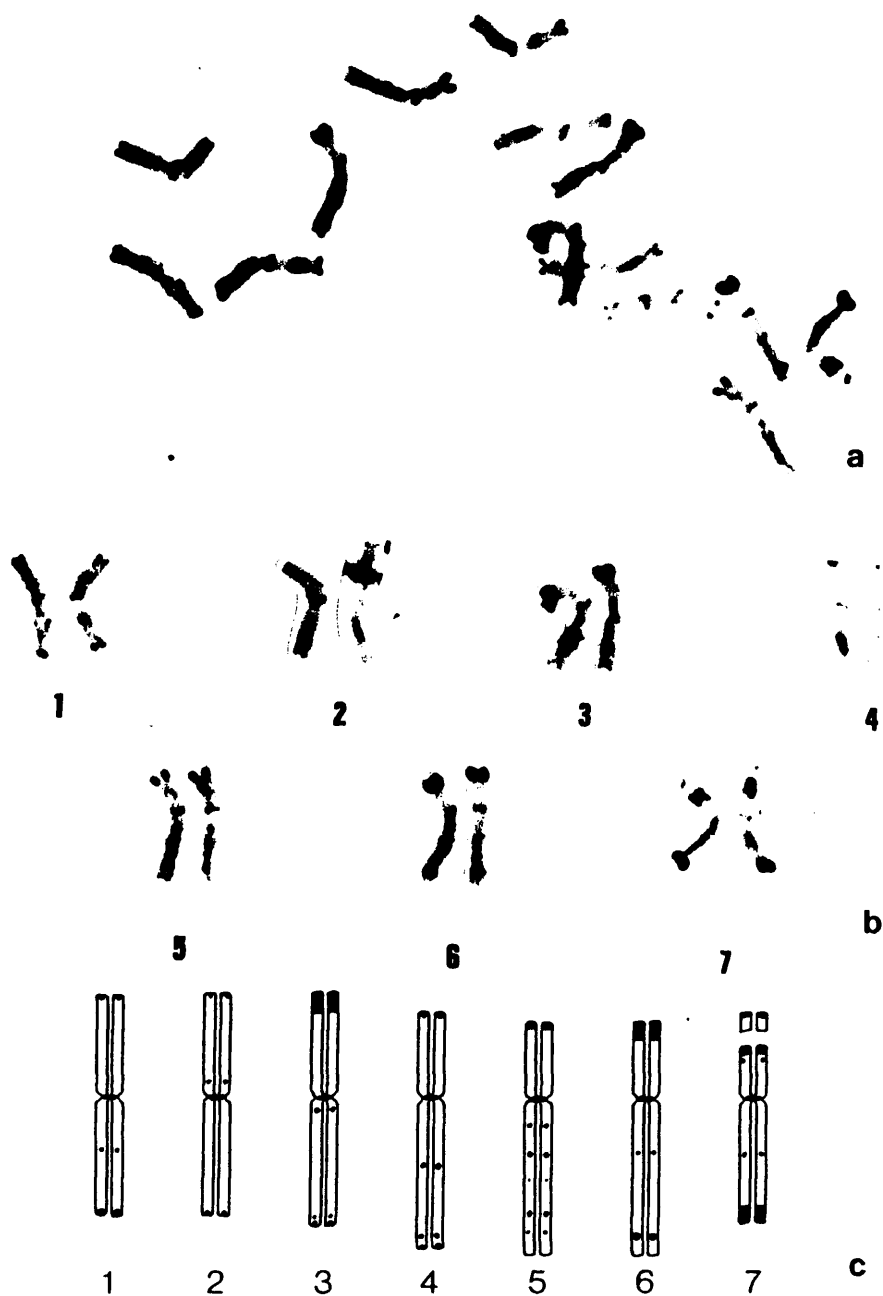


Lámina I a.- Metáfase mitótica de una célula de la línea P teñida mediante la técnica de bandeado con Giemsa. b.- Cariotipo obtenido a partir de la célula anterior. c.- Esquema ilustrativo del patrón de bandeado de la línea P.

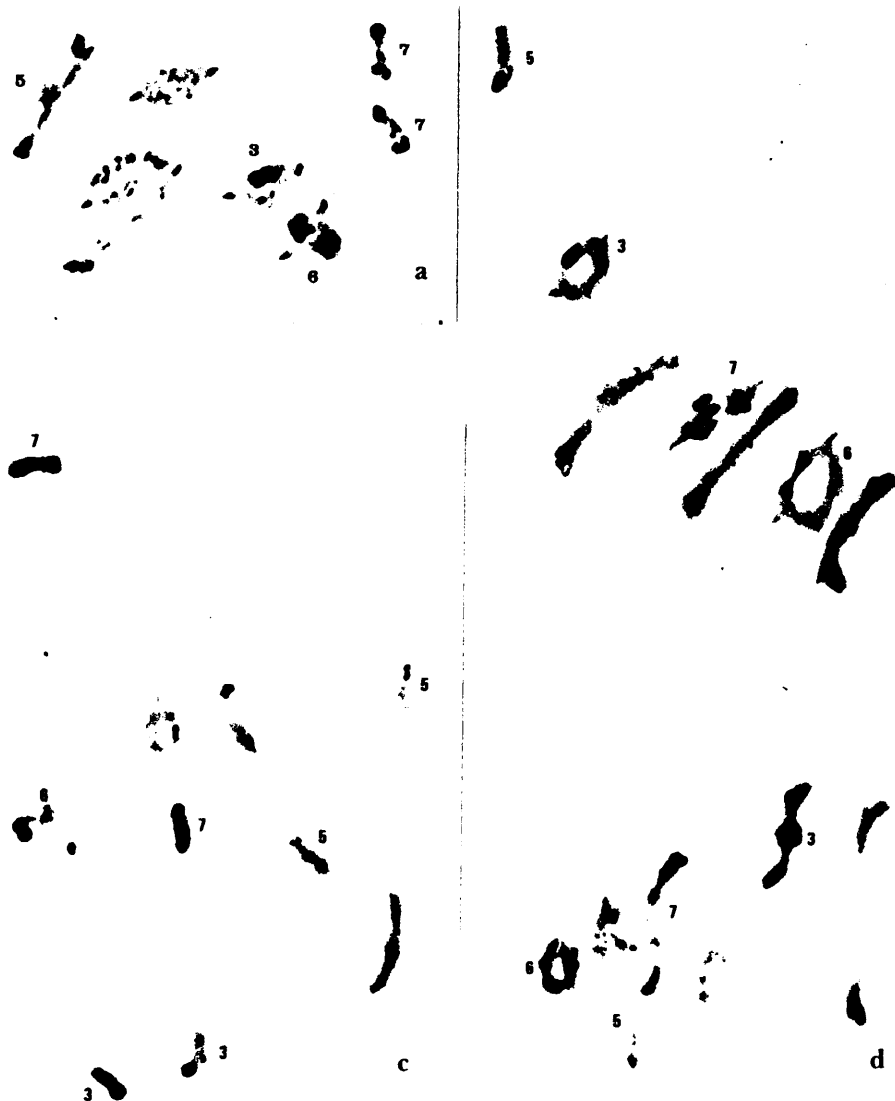
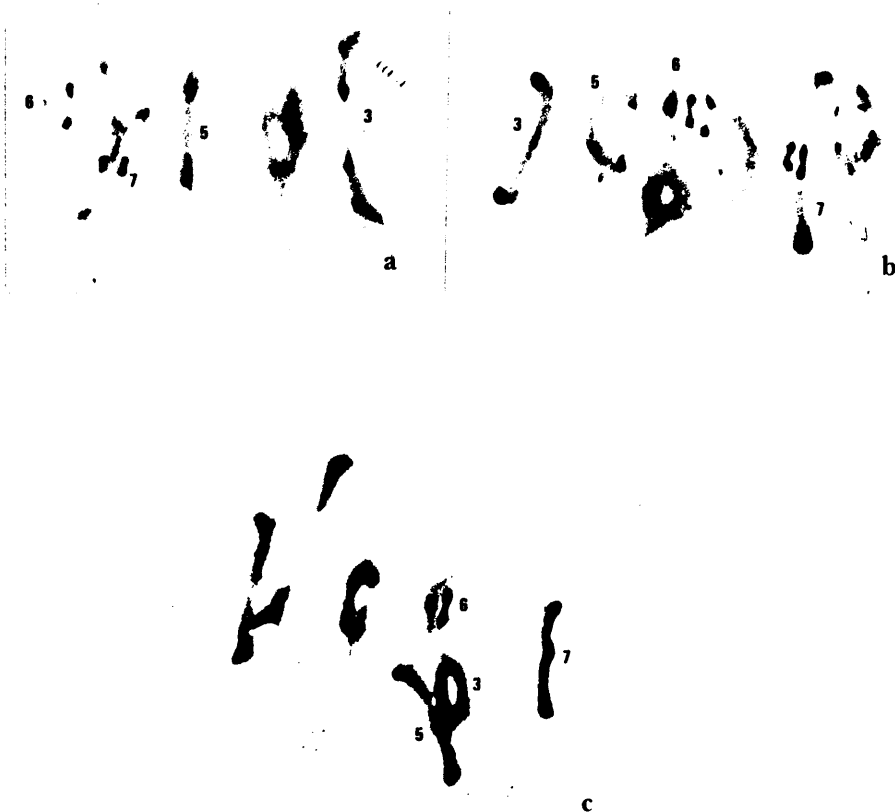


Lámina II.- Células en Metafase I de la línea P en las que los pares de cromosoma reconocibles aparecen indicados.



na III.- Células en Metafase I de la línea P en las que los pares de cromosomas reconocibles aparecen indicados.

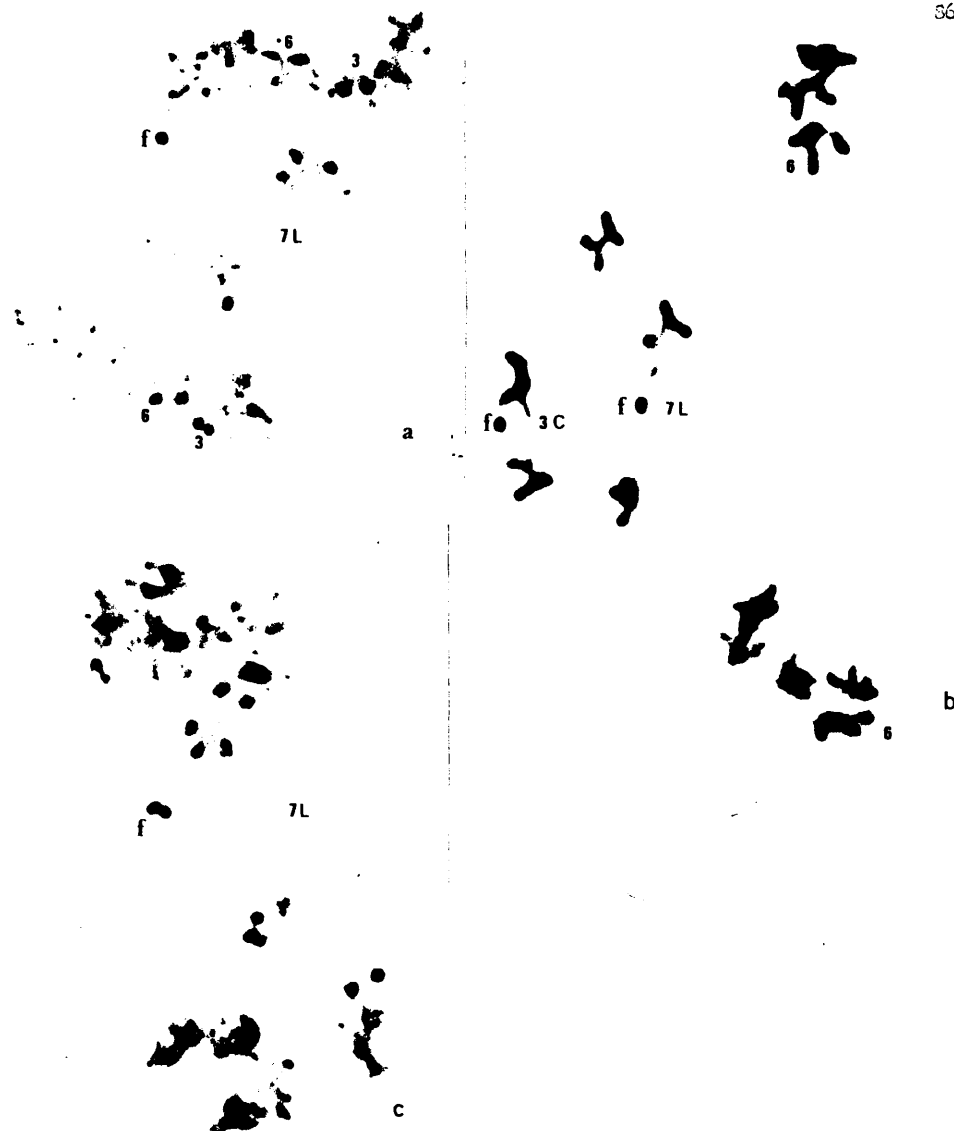


Lámina IV.- Células en Anafase I de la línea P en las que puede observarse la presencia de puentes y fragmentos (f). El brazo cromosómico implicado en la formación del puente aparece indicado en cada caso.



na V.- Células en Anafase I de la Línea P en las que puede observarse la presen-
 ia de puentes y fragmentos (f). El brazo cromosómico implicado en la formación del
 uente aparece indicado en cada caso.



Lámina VI.- Células en Anafase I de la línea P en las que puede observarse la presencia de puentes y fragmentos (f). El brazo cromosómico implicado en la formación del puente aparece indicado en cada caso.

DISCUSION

1. Niveles de variación en la asincronía celular

Los resultados obtenidos en el estudio de este fenómeno indican que el nivel de asincronía celular es menor dentro del mismo saco polínico que entre sacos de la misma antera.

Esta mayor sincronía de las células del mismo saco podría ser explicada no solo por tener un ambiente común dentro del saco, sino también por la posible existencia de conexiones citoplásmicas entre las células madres de polen, lo cual supondría además una posible unidad en la regulación.

Estas conexiones han sido descritas en numerosos organismos (ver rev. de Vasil, 1967, Stanley y Linskens, 1974, y Heslop-Harrison 1966, 1973), habiéndose atribuido a su desaparición después de la primera división meiótica, la mayor asincronía celular dentro del saco observada en segunda división.

2. Terminalización.

Los resultados recogidos en el cuadro 4 muestran que los coeficientes de regresión de la frecuencia de pares unidos sobre las transformaciones angulares de los correspondientes valores de índice de cada saco polínico son negativos y significativos en todas las plantas, excepto en P-4, E-4 y E-5. También son negativos en los totales de las tres líneas P(14) V(20) y E(17).

A la vista de las figuras 1, 2 y 3 puede observarse que para valores de -

índice superiores a 50, la varianza entre distintos sacos de la frecuencia de quiasmas parece ser mayor. Este fenómeno podría ser una consecuencia de la disminución en la sincronía que se produce en fases posteriores a Metafase I. Debido a esta disminución de sincronía la exactitud de la estimación del índice será menor.

Este mismo fenómeno sería el responsable de que en las plantas en las que se dispone solamente de sacos con valores de índice iguales, o superiores de 50, no sean significativos los coeficientes de regresión.

Puede concluirse por tanto que en estas líneas existe una pérdida del número de pares de brazos unidos a lo largo de la Metafase I y que esta pérdida es gradual.

Los resultados del cuadro 15 para el estudio de este mismo fenómeno en brazos cromosómicos específicos [reconocibles por la técnicas de bandeo-C, en la línea P(16)] muestran que hay algunos brazos cromosómicos en los que no se detecta esta pérdida. En cualquier caso, debemos recordar que la estimación del momento de la Metafase I es más inexacta, ya que al utilizar anteras completas en lugar de sacos polínicos, el mayor grado de asincronía existente puede suponer que haya varios estados de Metafase I.

De las comparaciones señaladas en el cuadro 5 entre las pendientes de las rectas de regresión de las distintas líneas P(14), V(20) y E (17) se deduce que las diferencias en la frecuencia de quiasmas entre las líneas que no tienen pendientes significativamente distintas se deben a procesos anteriores a la Metafase I

El movimiento de quiasmas hacia los extremos de los brazos cromosómicos, llamado por Darlington (1937) terminalización, no supone la separación de los - brazos cromosómicos durante la Metafase I, ni la aparición de univalentes durante esta fase. De hecho estos últimos fenómenos no tendrían su origen en las posibles causas de repulsión entre cromosomas durante la profase meiótica, sino - mas bien serían producto de la acción de fuerzas centroméricas dirigidas hacia polos opuestos. Cabe destacar, que la pérdida de pares de brazos unidos que conduce a la formación de univalentes, solo ocurre en material desinápico, cuando - las fuerzas que lo producen deben actuar en cualquier otro material. Las posibles causas de estas diferencias entre los dos tipos de materiales podrían ser o bien que en el material desinápico la naturaleza de las asociaciones terminales entre los pares de brazos unidos no sea quiasmática, sino simple aglutinación - (Stickness) o bien que la duración de la Metafase I en este material sea mayor de lo normal, teniendo más tiempo para la actuación de las fuerzas centroméricas.

Como ya se indicó anteriormente, los estudios más recientes sobre la terminalización han provocado una polémica sobre su existencia, quizá debida en gran parte al material y método utilizado. En cuanto a la pérdida de brazos unidos y aparición de univalentes durante la Metafase I los resultados varían según que el material que se estudie sea o no desinápico.

En líneas consanguíneas de centeno , los resultados obtenidos por Sybenga (1958) y Rees y Naylor (1960) apoyan los que hemos obtenido, en el sentido que - existe pérdida de quiasmas durante la Metafase I. También en el mismo tipo de material Giraldez y Lacadena (1976) deducen de un modo indirecto que hay pares de univalentes que se han soltado durante la Metafase I. Sin embargo Jones (1972) concluye que las asociaciones terminales observadas en líneas consanguíneas de

centeno no son debidas a terminalización de quiasmas desde el momento de su formación, sino a su fenómeno de "seudoterminalización", consistente en una reorganización del material cromosómico durante el proceso de contracción de la profase meiótica que no supone movimiento de quiasmas. Esta interpretación la basa en que algunos bivalentes observados presentan aparente asociación terminal entre las bandas de heterocromatina - C teloméricas, pero existe en la zona central de esta unión, una franja de eucromatina longitudinalmente. Si bien estas figuras detectadas por Jones (1978) han sido también observadas por nosotros (vease el cromosoma 7 en la fotografía b de la lámina III), sin embargo no son las más frecuentes, y en muchos casos (vease el cromosoma 3 de la fotografía a de la lámina III), la naturaleza terminal de la asociación es indudable.

En otros materiales desinápóticos, como es el caso de Tulipa estudiado por Couzin y Fox (1974), también se encuentra variación en la frecuencia de quiasmas entre secciones de la misma antera que se encuentran en diferente momento de la Metafase I.

En cambio, Balog (1979) no detecta tales diferencias entre sacos polínicos con Metafases tempranas medias o tardías en triploides de Allium triquetrum.

Los cuadros 6, 7 y 8, figuras 4 a 12, resumen los resultados obtenidos en cuanto a la variación de bivalentes cerrados, bivalentes abiertos y pares de univalentes.

Se observa una disminución significativa de bivalentes cerrados y un aumento significativo de pares de univalentes. En ningún caso los bivalentes abiertos disminuyen de modo significativo, y en cambio aumentan de modo significativo en

la mitad de las plantas y en el total de cada una de las líneas P(14) y V(20).

El significado de las modificaciones en las frecuencias de bivalentes cerrados, abiertos y univalentes, en el sentido de como puede haber acumulación de bivalentes abiertos, observado será discutido más adelante..

3. Frecuencias de quiasmas en los distintos pares de brazos cromosómicos reconocibles.

Cuando se utilizan métodos de tinción convencionales es imposible reconocer bivalentes específicos en centeno. Por tanto, las frecuencias de quiasmas o de simple asociación metafásica para brazos cromosómicos específicos no puede hacerse - a no ser que se utilicen modificaciones cromosómicas estructurales, las cuales - pueden afectar los resultados. El uso de la técnica de bandeo-C y las especiales características de la línea P(16) permiten hacer este estudio en los ocho brazos de los cuatro cromosomas reconocibles.

Los resultados de las comparaciones entre las frecuencias de quiasmas de los distintos brazos (cuadro 16) muestran que hay diferencias significativas para los dos brazos del mismo cromosoma en todos los casos, y así mismo entre todos los brazos largos (excepto los de los cromosomas 3 y 5) y entre el brazo corto del cromosoma 5 y todos los demás brazos cortos.

Debemos resaltar que en todos los modelos de los trabajos anteriores en centeno desinápico se suponía al calcular la distribución para la frecuencia de quiasmas por célula, que la frecuencia de quiasmas por bivalente era igual en todos ellos, o al menos en todos los brazos cromosómicos largos por un lado y en todos los brazos cortos por otro (Sybenga 1960, Jones 1967, Giraldez y Lacadena 1976)

En principio, puede suponerse que la causa de las diferencias en la frecuencia de quiasmas de los distintos brazos cromosómicos reconocibles, sea la diferencia en las longitudes relativas.

Observando la figura 13 se comprende que la influencia fundamental en la regresión positiva y significativa detectada entre estos dos parámetros, es la diferencia en la frecuencia de quiasmas del grupo de brazos cortos por un lado y el grupo de brazos largos por el otro, más que la posible correlación entre los dos parámetros dentro de cada uno de los grupos. De hecho, en el cuadro 16 se aprecian diferencias significativas entre brazos que tienen longitud relativa prácticamente igual (brazos cortos de los cromosomas 5 y 6) y en cambio no se observa diferencia significativa entre brazos con longitudes relativas muy diferentes (brazos largos de los cromosomas 3 y 5).

Aunque en general en todos los estudios realizados se ha encontrado una correlación positiva entre longitud cromosómica y frecuencia de quiasmas, se conocen numerosas excepciones: los trabajos de Mather (1937) en Locusta, y los de Henderson (1963) y Fox (1973) describen como los cromosomas más pequeños presentan invariablemente un quiasma, con independencia de su longitud.

Cuando brazos cromosómicos de igual longitud relativa presentan diferente frecuencia de quiasmas, la explicación puede ser su diferente contenido en heterocromatina, dado que en general se acepta que los quiasmas no se forman en zonas heterocromáticas (ver rev. de John 1976), ni en zonas de heterocromatina-C (Marks 1974; Hulten, 1974; Fox, Carter y Hewit, 1973; Santos y Giraldez, 1976; Jones, - 1976). Esta es la razón que dan Sybenga y de Vries (1972) para la no correspondencia de las longitudes de los brazos largo y corto con sus respectivas frecuencias

de quiasmas, en E-cromosomas de centeno.

Sin embargo, en nuestro caso, esta explicación no es válida: el brazo corto del cromosoma 5 presenta mucha menos heterocromatina - C que el brazo corto - del cromosoma 6, y sin embargo la frecuencia de quiasmas en el brazo 5 corto es significativamente menor que la del brazo 6 corto.

4. Interferencia.

4.1. Interferencia a través del centrómero.

Este fenómeno se estudió en los cuatro pares de cromosomas reconocibles del material P(16).

En el cuadro 17 se recogen los resultados de la comparación mediante un χ^2 entre las frecuencias observadas de cada una de las cuatro configuraciones meióticas posibles para cada uno de los cuatro pares de cromosomas reconocibles, y las frecuencias esperadas según la hipótesis de independencia. Estos resultados indican aparentemente interferencia negativa para los cromosomas 3, 5 y 6.

Cuando este mismo estudio se hizo solo sobre anteras con Metafase I tempranas (Cuadro 18), los valores observados se ajustan a los esperados, mientras que aparecen desviaciones en el sentido de interferencia negativa en las anteras con Metafases I medias (cuadro 19, para los cromosomas 3 y 5) y en Metafase I tardías (cuadro 20, para el cromosoma 7).

Puede concluirse, que al principio de la Metafase I los brazos cromosómicos se comportan como independientes en cuanto a la probabilidad de formación de quiasmas en cada brazo, y es en estados más avanzados que esta fase cuando aparecen valores similares a los esperados en caso de interferencia negativa.

Este tipo de estudio no se había podido hacer en centeno, ya que no se podían distinguir los distintos bivalentes, a excepción de los 5 cromosomas, estudiados por Sybenga y de Vries (1972). Estos autores calculaban el coeficiente de coincidencia como el número de bivalentes cerrados observados partido por el de esperados en caso de independiencia. Encontraron interferencia negativa significativa en una planta y no en la otra, atribuyendo estos resultados a una localización más proximal del quiasma en el brazo largo en la planta en la que la interferencia era significativa, que en la otra.

En el cuadro 21 figuran los coeficientes de regresión entre las frecuencias de quiasmas de los dos brazos para cada uno de los cuatro cromosomas reconocibles. Se observa que no existe regresión significativa en todos los casos, excepto para el cromosoma 5, siendo positiva.

Estos resultados son concordantes con los anteriores, ya que se concluye que no existe dependencia entre los dos brazos de cada cromosoma, y la que se detecta en el cromosoma 5 es explicable por utilizar pares de datos correspondientes a anteras que están en diferente momento de la Metafase I, y por lo tanto con distinto grado de terminalización. Por este mismo método se había detectado variación para el tipo de interferencia o su signi-

ficación segun el grupo cromosómico de Paeonia triaristata por Harte (1956).

Como decíamos anteriormente, es conforme avanza la Metafase I cuando empiezan a aparecer valores observados correspondientes a lo esperando - en caso de interferencia negativa, es decir un exceso de bivalentes cerrados y pares de univalentes observados frente a lo esperado. Este fenómeno podría ser explicado en el supuesto de que la terminalización alterase de modo diferente las frecuencias relativas de bivalentes cerrados, bivalentes abiertos y pares de univalentes. Partimos de una situación de independencia entre los dos brazos de un cromosoma determinado, con C bivalentes cerrados, A_1 bivalentes abiertos unidos por el brazo 1, A_2 bivalentes abiertos unido por el brazo 2, y siendo la frecuencia de quiasmas en el brazo 1, $p_1 = C + A_1$ y en el brazo 2, $p_2 = C + A_2$, las frecuencias de las cuatro configuraciones meióticas serán:

$$C = p_1 \cdot p_2$$

$$A_1 = p_1 \cdot q_2$$

$$A_2 = q_1 \cdot p_2$$

$$U = q_1 \cdot q_2$$

y por tanto se cumplirá la igualdad.

$$C \times U = A_1 \times A_2$$

Sea t_1 la probabilidad de terminalización para el brazo 1 en los bivalentes cerrados y t_1' en los bivalentes abiertos, y sea t_2 la probabilidad de terminalización para el brazo 2 en los bivalentes cerrados y t_2' en los bivalentes abiertos. Pueden ser distintos t_1 y t_1' , y t_2 y t_2' .

Después de que se de terminalización las nuevas frecuencias (C' , A'_1 , A'_2 , U') de las distintas configuraciones meióticas serán:

$$C' = C - t_1(1-t_2) C - t_2(1-t_1) C - t_1 t_2 C = (1-t_1)(1-t_2) C$$

$$A'_1 = t_2(1-t_1) C + (1-t_1) A_1$$

$$A'_2 = t_1(1-t_2) C + (1-t_2) A_2$$

$$U' = U + t_1 A_1 + t_2 A_2 + t_1 t_2 C$$

Después de terminalizado, para que se sigan manteniendo las frecuencias correspondientes a falta de interferencia deberá cumplirse la igualdad

$$C' \times U' = A'_1 \times A'_2$$

es decir :

$$(1-t_1)(1-t_2) C \times [U + t_1 t_2 C + t_1 A_1 + t_2 A_2] = \\ = [t_2(1-t_1) C + (1-t_1) A_1] \times [t_1(1-t_2) C + (1-t_2) A_2]$$

realizadas las operaciones correspondientes:

$$(1-t_1)(1-t_2) CU + (1-t_1)(1-t_2) t_1 t_2 C^2 + t_1(1-t_1)(1-t_2) \\ + t_2(1-t_1)(1-t_2) A_2 C = \\ = (1-t_1)(1-t_2) A_1 A_2 + (1-t_1)(1-t_2) t_1 t_2 C^2 + \\ + t_2(1-t_2)(1-t_1) C A_2 + t_1(1-t_1)(1-t_2) A_1 C$$

eliminando los sumandos que sean iguales en los dos terminos:

$$t_1(1-t_1)(1-t_2) A_1 C + t_2(1-t_1)(1-t_2) A_2 C = \\ = t_1(1-t_1)(1-t_2) A_1 C + t_2(1-t_1)(1-t_2) A_2 C$$

que simplificando queda:

$$A_1 (1 - t_2) (t'_1 - t_1) = A_2 (1 - t_1) (t_2 - t'_2)$$

Esta igualdad se cumple cuando $t_1 = t'_1$ y $t_2 = t'_2$

Cuando $t_1 > t'_1$ y $t_2 > t'_2$ los valores A_1 y A_2 observados serán mayores que los esperados calculados a partir de p_1 y p_2 .

Cuando $t_1 < t'_1$ y $t_2 < t'_2$ los valores observados C' y U' serán mayores que los esperados calculados a partir de las frecuencias p_1 y p_2 en el supuesto de independencia.

En consecuencia se puede esperar que al avanzar las Metafasas I - aparezcan resultados similares a los explicables por interferencia negativa, cuando la posibilidad de terminalización para cada brazo sea menor en un bivalente cerrado que en uno abierto. Esta diferencia de probabilidad de terminalización sería explicable bajo el punto de vista de que las tensiones originadas por las fuerzas centrómericas están repartidas en un bivalente cerrado entre los dos brazos, mientras en un bivalente abierto se están ejerciendo solo sobre el brazo por el cual esté unido el par de cromosomas.

A modo de aclaración, pongamos un ejemplo, suponiendo que $p_1 = 0.9$ y $p_2 = 0.6$ y en el supuesto de independencia, las frecuencias de las configuraciones meióticas serán:

$$C = p_1 \cdot p_2 = 0.54$$

$$A_1 = p_1 \cdot q_2 = 0.36$$

$$i_2 = q_1 \cdot p_2 = 0'06$$

$$U = q_1 \cdot q_2 = 0'04$$

Si $t_1 = 0'1 < t_1' = 0'3$ y $t_2 = 0'2 < t_2' = 0'5$, la frecuencias des -
pues de la terminalización serán:

$$C' = (1 - t_1) (1 - t_2) \quad C = 0'3888$$

$$A_1' = t_2 (1 - t_1) C + (1 - t_1') A_1 = 0'3492$$

$$A_2' = t_1 (1 - t_2) C + (1 - t_2') A_2 = 0'0732$$

$$U' = U + t_1' A_1 + t_2' A_2 + t_1 t_2 C = 0'1888$$

Por tanto las nuevas frecuencias de quiasmas en cada brazo serán
 $p_1' = C' + A_1' = 0'738$ y $p_2' = C' + A_2' = 0'462$. Las frecuencias esperadas
para las 4 configuraciones meióticas en el supuesto de independencias entre
brazos en este momento serán:

$$C'' = p_1' \cdot p_2' = 0'340956$$

$$A_1'' = p_1' \cdot q_2' = 0'397044$$

$$A_2'' = q_1' \cdot p_2' = 0'121044$$

$$U'' = q_1' \cdot q_2' = 0'140956$$

Los valores observados para bivalentes cerrados y pares de univa-
lentes son menores de lo esperado.

Debemos resaltar que eso no significa que los bivalentes abiertos

después de la terminalización sean menos que antes, de hecho tenemos $A_1 + A_2 = 0.224$ bivalentes abiertos después de la terminalización frente a $A_1 + A_2 = 0.2$ bivalentes abiertos antes de ella.

Por tanto los resultados obtenidos de aumento de bivalentes abiertos en el estudio del apartado de terminalización no son contradictorios con este modelo. Para valores iguales t_1, t_1, t_2, t_2 podrá observarse después de la terminalización un aumento de bivalentes abiertos o una disminución en función de cual sea la frecuencia relativa de bivalentes cerrados inicial.

Por otro lado, las variaciones en el ajuste entre frecuencias observadas y esperadas para un mismo cromosoma en distintos momentos de la Metafase I, podrían explicarse tal vez por cambios en las probabilidades de terminalización conforme avanza la Metafase I.

2. Interferencia intercromosómica.

Las regresiones positivas obtenidas, significativas en el caso de comparar las frecuencias de quiasmas de los cromosomas 5 con el 6, 5 con el 7 y 3 con el 7 (vease cuadro 22), pueden ser explicadas por el distinto grado de terminalización de las anteras utilizadas. Entre el resto de los pares de cromosomas reconocibles, no se encontraron regresiones significativas, aunque todas eran positivas.

La comparación, mediante un χ^2 de contingencia de las diferencias entre las frecuencias observadas de las distintas clases de células (agrupadas en función del número de quiasmas en el grupo de cromosomas reconocibles

y en el grupo de cromosomas no reconocibles) y las esperadas en caso de independencias entre estos dos grupos, no resultan significativas (vease cuadro 23).

Ambos resultados pueden interpretarse en el sentido de que la probabilidad de quiasmas en un bivalente no modifica la probabilidad de quiasmas en los restantes, por lo que en nuestro material no parece existir una competencia de bivalentes como consecuencia de que exista un límite máximo de quiasmas.

Estos resultados están de acuerdo con los encontrados por Sybenga (1958) en líneas consanguíneas de centeno, en los que no observaba que la varianza intracelular fuera mayor que la intercelular, y con las correlaciones positivas observadas por Lamm (1936) también en líneas consanguíneas de centeno. En cambio, difieren de los resultados que en poblaciones alógamas de centeno encuentran Mather y Lamm (1935). Observan que la varianza intracelular es mayor que la intercelular, de modo que existe una correlación negativa entre los bivalentes para frecuencia de quiasmas. Tampoco concuerdan con la correlación negativa entre B-cromosomas y A-cromosomas en centeno, - observadas por Darlington (1933).

5. Puentes y fragmentos en Anafase I.

La discusión sobre las posibles causas del origen de los puentes y fragmentos en Anafase I se sale del objeto del nuestro trabajo. En centeno desináptico se acepta que los errores en la formación de quiasmas por intercambios de tipo U son los responsables de la formación de al menos la mayor parte de los puentes y frag

mentos (Jones 1968, 1969, Jones y Brumpton 1971, Giraldez y Lacadena 1970, Jones 1973).

Los resultados obtenidos en cuanto a la variación en el tamaño de los fragmentos, parecen indicar una cierta especificidad por parte de cada brazo cromosómico. Este fenómeno, podría explicarse bajo el supuesto de que la heterocromatina tuviera alguna relación con la formación de los errores que conducen a la aparición de puentes y fragmentos. De hecho la forma de los fragmentos obtenidos en cada brazo cromosómico se corresponde con el supuesto de que los errores se producen en la proximidad de la frontera entre eu y heterocromatina - C.

Así, a la vista del idiograma de la lámina I los fragmentos para cada brazo cromosómico reconocible podrían explicarse de la siguiente manera.

El brazo largo del cromosoma 7 da lugar a dos tipos de fragmentos: los que llevan toda la heterocromatina terminal y fragmentos con hetero y eucromatina, - que se podrían formar por errores junto a la banda gruesa de heterocromatina telomérica y junto a la banda fina intersticial respectivamente.

El brazo corto del cromosoma 7 forma también dos tipos de fragmentos: los pequeños que podrían formarse por errores junto a la banda fina de heterocromatina telomérica del satélite y los mayores que llevan la banda gruesa de heterocromatina, pero de intensidad débil que existe junto al organizador nucleolar, originados por errores junto a dicha banda.

El brazo largo del cromosoma 6 presenta fragmentos de pequeño tamaño y fragmentos grandes que llevan las bandas finas subterminales. Los primeros se forma-

rán por errores junto a las bandas finas subterminales y los segundos por errores junto a las bandas finas intersticiales. A veces se observan fragmentos que suponen la pérdida de todo el brazo, por errores junto a la banda centromérica.

El brazo corto del cromosoma 6 origina fragmentos que llevan toda la heterocromatina terminal, y fragmentos muy grandes con hetero y eucromatina. Los errores en la proximidad a la banda subtelomérica o a la banda centromérica explicarían respectivamente los dos tipos de fragmentos.

El brazo largo del cromosoma 3 da lugar a fragmentos pequeños o fragmentos grandes que llevan todo el brazo largo originados por errores junto a la banda fina telomérica y por errores junto a la banda centromérica.

El brazo corto del cromosoma 3 forma fragmentos con solo la heterocromatina terminal o con eu y heterocromatina, cuya explicación sería análoga a la de los fragmentos para el brazo corto del cromosoma 6. Sin embargo, este brazo origina además en cuatro de los casos, un fragmento pequeño de eucromatina, quedando en el puente el resto de la banda telomérica.

Jones en 1973, solo encontró en su material este tipo de puente y fragmento una vez entre varios cientos de observaciones. La explicación del origen de este tipo de fragmento podría tal vez ser la existencia de una banda de eucromatina muy fina en el interior de la banda telomérica terminal. De cualquier manera es significativo el hecho de que solo el cromosoma 3 es el que presenta esta forma de puente y fragmento.

Para el resto de los cromosomas se encuentran fragmentos de muy diverso -

tamaño.

El supuesto de que los errores se produzcan en la proximidad con la frontera entre eu y heterocromatina - C explicaría, así mismo, la falta de relación encontrada entre quiasmas y puentes. Como cada cromosoma tiene un bandeo-C específico, si los puentes tienen relación con las bandas de heterocromatina - C, la correlación entre puentes y quiasmas no depende solo de las frecuencias de quiasmas sino también de su posición, es decir que no todos los quiasmas tienen la misma probabilidad de ser erróneos.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

Se ha estudiado la frecuencia total de pares de brazos unidos en sacos polínicos que estaban en distinto momento de la Metafase I, para las tres líneas P(14) V(20) y E(17) de centeno desináptico. También se estudia la frecuencia de pares de brazos unidos para cada par de brazos cromosómicos reconocibles mediante la técnica de bandeó - C, en anteras en distinto momento de la Metafase I de la línea P(16). - Puede concluirse que en este material existe una pérdida gradual de pares de brazos unidos conforme avanza la Metafase I, aunque dicho fenómeno puede no ser detectado por igual en todos los brazos cromosómicos. Este hecho parece tener como consecuencia una disminución de bivalentes cerrados y un aumento de pares de univalentes. A que no tan evidente, parece existir cierta acumulación de bivalentes abiertos.

Quando se comparan las frecuencias de quiasmas en los distintos brazos cromosómicos, en anteras que están en un mismo momento de la Metafase I, se concluye - que las diferencias encontradas pueden ser significativas, no sólo entre los dos brazos de un mismo cromosoma, sino también entre los brazos largos por un lado y entre los brazos cortos por otro. Mientras las diferencias entre los brazos largos y los cortos pueden estar condicionadas fundamentalmente por sus distintas longitudes, no parece ser ésta la naturaleza de las diferencias entre los brazos largos o entre los brazos cortos de distintos cromosomas.

Se estudió también el fenómeno de interferencia a través del centrómero en los cuatro pares de cromosomas reconocibles. Los resultados obtenidos por los dos métodos utilizados indican aparente interferencia negativa y pueden ser explicados como resultado de la existencia de terminalización. Se propone un modelo que parte del supuesto de independencia entre los brazos de un cromosoma determinado en la -

formación de quiasmas e indica cómo puede llegarse a un exceso de bivalentes cerrados y pares de univalentes observados frente a los valores esperados en caso de independencia, siempre que la probabilidad de terminalización para cada brazo cromosómico sea menor en un bivalente cerrado que en un bivalente abierto. Así mismo este modelo puede explicar la acumulación de bivalentes abiertos observada.

Los resultados del estudio de una posible interferencia intercromosómica - indican que los bivalentes se comportan como independientes en cuanto a la probabilidad de formación de quiasmas. Cuando aparece alguna correlación entre las frecuencias de quiasmas de dos bivalentes siempre es positiva, y por tanto explicable si los pares de datos corresponden a anteras en distintos momentos de la Metafase I.

Por consiguiente parece ser que la existencia comprobada de terminalización basta para explicar frecuencias que hubieran sido interpretadas como consecuencia de interferencia negativa entre brazos del mismo cromosoma o entre distintos cromosomas.

Por último, se estudió la posible relación de la frecuencia de puentes en Anafase I y del tipo de fragmentos que aparecen, con la formación de quiasmas en cada par de brazos cromosómicos. Se concluye que en esta relación existe probablemente un componente de posición, ya que no parece que todos los quiasmas tengan la misma probabilidad de ser erróneos.

B I B L I O G R A F I A

- BALOG, C. 1979: Studies on triploid Allium triqustrum. I The effect of developmental age on univalent frequency and behaviour. *Chromosoma (Berl.)*, 72, 335-346
- BASAK, S.L. JAIN, H. K. 1963: Autonomous and interrelated formation of chiasmata in Delphinium chromosomes. *Chromosoma (Berl.)*, 13 577-587.
- BENNETT, M. D. REES, H. 1970: Induced variation in chiasma frequency in rye in response to phosphate treatments. *Gen. Res. (Camb)* 16, 325-331.
- BENNETT, M. D. STERN, H. WOODWARD, M. 1974: Chromatin attachment to nuclear membrane of wheat pollen mother cells. *Nature*, 252, 395-396.
- BOGDANOV, Y. F. 1977: Formation of cytoplasmic synaptonemal-like polycomplexes at leptotene and normal synaptonemal complex at zygotene in Ascaris suum male meiosis. *Chromosoma (Berl.)* 61, 1-21.
- CALLAN, H.G. MONTALENTI, G. 1947: Chiasma interference in mosquitoes. *J. Genet.* 48, 119-134.
- CARPENTER, A.T.C. 1975: Electron microscopy of meiosis in Drosophila melanogaster females II: The recombination nodule -a recombination- associated structure at pachytene. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.* 72:3186 -3189.
- CHURCH, K. WIMBER, D.E. 1969: Meiosis in Ornithogalum virens (Liliaceae): Meiotic -turning and segregation of H³ thymidine labelled chromosomes. *Canad. J. Genet. Cytol.* 11, 573-581.

- COUZIN, D. A., FOX, D. P. 1973: U-tippe exchange in Tulip meiosis. *Chromosoma* (Berl.) 41, 421-436.
- COUZIN, D. A. FOX, D. P. 1974: Variation in chiasma frequency during tulip anther development. *Chromosoma* (Berl.), 46, 173-179.
- CRAIG-CAMERON, T.A. JONES, G.H. 1970: The analysis of exchanges in tritium-labelled meiotic chromosomes I. Schistocerca gregaria. *Heredity*, 25, 223-232.
- CREIGHTON, H.B., McCLINTOCK, B. 1931: A correlation between cytological and genetical crossing-over in Zea mays. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 17, 492-497.
- DARLINGTON, C. D. 1931: Meiosis. *Biol. Rev.* 6, 221-264.
- DARLINGTON, C. D. 1933: The origin and behaviour of chiasmata VIII. Secale cereale. *Cytologia*, 4, 444-452.
- DARLINGTON, C. D. 1937: Recent advances in Cytology. London, Churchill 2nd edition.
- DARLINGTON, C. D. 1965: Cytology. J. A. Churchill Ltd. XVI - 768.
- DYER, A. F. 1963: Allocyclic segments of chromosomes and the structural heterozygosity that they reveal. *Chromosoma* (Berl.), 13, 545-576.
- DYER, A. F. 1964: Heterochromatin in American and Japanese species of Trillium III. Chiasma frequency and distribution and the effect on it of heterochromatin. *Cytologia*, 29, 263-279.

- ELLIOT, C. G. 1958: Environmental effects on the distribution of chiasmata among nuclei and bivalents and correlation between bivalents. *Heredity*, 12, - 429-439.
- FANCETT, D. 1956: The fine structure of chromosomes in the meiotic prophase of vertebrate spermatocytes. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 2, 403.
- FLETCHER, H. L. 1978: Localised chiasmata due to partial pairing: a 3 D reconstruction of synaptonemal complexes in males Stethophyma grossum. *Chromosoma (Berl.)* 65, 247-269.
- FOGWILL, H. 1958: Differences in crossing-over and chromosome size in the sex cells of Lilium and Fritillaria. *Chromosoma (Berl.)* 9, 493-504.
- FONTANA, F.G. VICKERY, V. R. 1974: Heterochromatin content and chiasma distribution in the megameric chromosome of Stethophyma gracile and Stethophyma lineatum (Orthoptera: Acrididae). *Chromosoma (Berl.)*, 46, 375-396.
- FOX, D. P. 1973: The control of chiasma distribution in the locust, Schistocerca gregaria (Forsk.). *Chromosoma (Berl.)*, 43, 289-328.
- FOX, D. P. CARTER, K. C. HEWITT, G. M. 1973: Giemsa banding and chiasma distribution in the desert locust. *Heredity* 31, 272-276.
- FU, T. K. SEARS, E. R. 1973: The relationship between chiasmata and crossing-over in Triticum aestivum. *Genetics*, 75, 231-246.
- GILLIES, C. B. 1979: The relationship between synaptonemal complexes, recombination nodules and crossing-over in Neurospora crassa bivalents and translocation quadrivalents. *Genetics*. 91, 1-17.

- GIRALDEZ, R. GERMEÑO, M. C. ORELLANA J. 1979: Comparison of C-banding pattern in the chromosomes of inbred lines and open pollinated varieties of rye. *Z. Planzenzüchtg* (in press).
- GIRALDEZ, R. LACADENA, J. R. 1976: Univalent Behaviour at Anaphase I in Desynaptic rye. *Chromosoma* (Berl.), 59, 63-72.
- GIRALDEZ, R. LACADENA J. R. 1978: Relationships between frequency, localization and errors in chiasma formation in desynaptic rye. *Chromosoma*, (Berl.) 66, 193-204.
- GIRALDEZ, R. ORELLANA, J. 1979: Metaphase I bonds, crossing-over frequency and genetic length of specific chromosome arms of rye. *Chromosome* (Berl.), 72, 377-385.
- GRELL, R.F., BANK, H., GASSNER, G. 1972: Meiotic exchange without the synaptonemal complex. *Nature* 240, 155-157.
- HALDANE, J. B. S. 1931: The cytological basis of genetical interference. *Cytologia*, 3, 54-65.
- HAGA, T. 1953: Meiosis in Paris II. Spontaneous breakage and fusion of chromosomes. *Cytologia*, 18, 50-66.
- HARTE, C. 1956: Die Variabilität der Chiasmenbildung bei Paeonia tenuifolia. *Chromosoma* (Berl.), 8, 152-182.

- HEARTE, E. M. MUSKINS, C.L. 1935: Chromosome pairing in Melanolus fenn-rubrum. Cytologia, 6, 123-147.
- HENDERSON, S. A. 1963: Chiasma distribution at diplotene in a locust. Schistocerca gregaria. Heredity, 18, 173-190.
- HENDERSON, S. A. 1969: Chiasma localisation and incomplete pairing. Chromosomes Today, 2, 56-60.
- HENDERSON, S. A. 1970: The time and place of meiotic crossing-over. Ann. Rev. Gen. 4, 295-324.
- HENNEN, W. K. 1963: Extensive chromosome breakage occurring spontaneously in a cer individual of Elymus farctus (Agropyron junceum). Hereditas (Lund.), 49, 1-32.
- HESLOP-HARRISON, J. 1966: Cytoplasmic connections between angiosperm meiocytes. Ann. Bot. 30, 221-230.
- HESLOP-HARRISON, J. 1973: Pollen Development and physiology. The Butterworth group, London, Fakenham and Reading.
- HOLLIDAY, R. 1964: A mechanism for gene conversion in fungi. Genet. Res. 5, 282-30
- HOLLIDAY, R. 1974: Molecular aspects of genetic exchange and gene conversion. Genetics. 78, 273-287.

- HOLLIDAY, R. 1977: Recombination and meiosis. Phil. Trans. R.Soc. Lond.B. 277, 359-370.
- HOTTA, Y. STERN, H. 1975: Zygotene and pachytene-labelled sequences in the meiotic organization of chromosomes. In the Eukaryote ed. W. J. Peacock & R. P. Drock, 283-300. Canberra. Australian National University Press.
- HULTEN, K. 1974: Chiasma distribution at diakinesis in the normal human male. Hereditas (Lund.), 76, 55-78.
- JANSSENS, F. A. 1924: La chiasmatisation dans les insectes. La cellule, 34, 135-359.
- JOHN, B. 1973: The cytogenetic systems of grasshoppers and locusts II The origin and evolution of supernumerary segment. Chromosoma (Berl.), 44, 123-146.
- JOHN, B. 1976: Myths and mechanisms of meiosis. Chromosoma (Berl.) 54, 295-325.
- JOHN, B. LEWIS, K. R. 1965: The meiotic system. Protoplasmatologia Band VI Fl. Springer-Verlag.
- JOHANSSON, H. 1944: Meiotic Aberrations and sterility on Alopecurus myosuroides Huds. Hereditas (Lund) 30, 469-566.
- JONES, G. H. 1967: The control of chiasma distribution in rye. Chromosoma (Berl.) , 22, 69-90.
- JONES, G. H. 1968: Meiotic errors in rye related to chiasma formation. Mutation Res. 5, 385-395.

- JONES, G. H. 1969: Further correlations between chiasmata and U-type exchanges in rye meiosis. *Chromosoma* (Berl.) 26, 105-118.
- JONES, G. H. 1971: The analysis of exchanges in tritium-labelled meiotic chromosomes II. *Stethophyma grossum*. *Chromosoma*, (Berl.) 34, 367-382.
- JONES, G. H. 1973: Light and electron microscope studies of chromosome pairing in relation to chiasma localisation in *Stethophyma grossum* (Orthoptera: Acrididae). *Chromosoma* (Berl.) 42, 145-162.
- JONES, G. H. 1974: Correlated components of chiasma variation and the control of chiasma distribution in rye. *Heredity* 32, 375-387.
- JONES, G. H. 1977: A test for early terminalisation of chiasmata in diplotene spermatocytes of *Schistocerca gregaria*. *Chromosoma* (Berl.), 63, 287-294.
- JONES, G. H. 1978: Giemsa C-banding of rye meiotic chromosomes and the nature of terminal chiasmata. *Chromosoma* (Berl.), 63, 287-294.
- JONES, G. H. BRUMPTON, R. J. 1971: Sister and Non-sister chromatid U-type exchange in rye meiosis. *Chromosoma* (Berl.), 33, 115-128.
- KLEIN, H. D. BAQUARD, S. R. 1972: Genetically controlled chromosome breakage and reunions in the meiosis. *Chromosoma* (Berl.), 37, 223-231.
- KOUL, A. K. 1962: Desynapsis and spontaneous chromosome breakage in *Allium cepa*. *Phyton* 19, 115-120.

- LABEL, R. 1936: Cytological studies on inbred rye. *Hereditas* (Lund), 22, 217-240.
- LEVAN, A. 1936: Zytologische studies in Allium schoenoprasum. *Hereditas* (Lund.), 22 1-128.
- LINSBERT, G. 1954: Die Struktur der Pachyrhynchrosomen in Euchromatin und Heterochromatin und ihre Auswirkung auf die Chiasmabildung bei Salvia Ardu. *Chromosoma* (Berl.) 7, 90-128.
- LUCCHESI, K. R. SUZUKI, D. T. 1968: The interchromosomal control of recombination. *And. Rev. Genet.* 2, 53-86.
- MAGUIRE, M. P. 1977: Homologous chromosome pairing. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* 277, 245-258.
- MAGUIRE, M. P. 1979: Direct cytological evidence for true terminalization of chiasmata in maize. *Chromosoma* (Berl.) 71, 249-262.
- MARKS, G. E. 1974: Giemsa banding of meiotic chromosomes in Anemone blanda L. *Chromosoma* (Berl.) 49, 113-119.
- MATHER, K. 1937: The determination of position in crossing-over II. The chromosome length chiasma frequency relation. *Cytologia Fujii jub. vol* 514-526.
- MATHER, K. 1939: Competition for chiasmata in diploid and trisomic maize. *Chromosoma* (Berl.), 1, 119-129.

- MATHER, K. LAMM, R. 1935: The negative correlation of chiasma frequencies. *Hereditas* (Lund.), 20, 65-70.
- MOENS, P.B. 1963: The structure and function of the synaptonemal complex in Lilium longiflorum sporocytes. *Chromosoma* (Berl.), 23, 418-451.
- MOENS, P. B. 1969: The fine structure of meiotic chromosome polarization and pairing in Locusta migratoria spermatocytes. *Chromosoma* (Berl.) 28, 1-25.
- MOENS, P. B. 1973: Quantitative electron microscopy of chromosome organization at meiotic prophase. *Cold. Spring. Harb. Symp. Quant. Biol.* 38, 99-107.
- MORGAN, T. H. BRIDGES, C. B. SCHULTZ, J. 1933: Constitution of the germinal material in relation to heredity. *Carnegie Inst. Wash Yearbook* 32, 298-302.
- MOSES, M. J. 1956a: Chromosomal structure in Grayfish spermatocytes *J. Biophys. - Biochem. Cytol.* 2, 215.
- MOSES, M. J. 1956b: Studies on nuclei using correlated cytochemical, light and - electron microscope techniques. *J. Biophys. Biochem.Cytol.2.Supl.* 397-406.
- MOSES, M. J. RUSSELL, L. B. CACHEIRO N. L. A. 1977: Mouse chromosome translocations: visualization and analysis by electron microscopy of the synaptonemal complex. *Science* 196, 892-894.
- MULLER, H. J. 1916: The mechanism of crossing-over. *Amer. Nat.* 50. 193.

- MUNTZING, A. ANDIK, S. 1948: Cytological disturbances in the first inbred generations of rye. *Hereditas* (Lund.) 34, 485-509.
- NEWMAN, L. J. 1967: Meiotic chromosomal aberrations in wild populations of Podophyllum peltatum. *Chromosoma* (Berl.) 22, 258-273.
- ÖSTERGREN, G. 1943: Elastic chromosome repulsions. *Hereditas* (Lund.) 29, 444-450.
- PÄTAU, K. 1941: Cytologischer Nachweis einer positiven Interferenz über das Centromer (Der Paarungs Koeffizient I). *Chromosoma* (Berl.) 2, 36-63.
- PASTOR, J. B. CALLAN, H. G. 1952: Chiasma formation in spermatocytes and oocytes of the turbellarian Dendrocoelum lacteum, *J. Genet.* 50, 449-454.
- PEACOCK, W. J. 1970: Replication recombination and chiasmata in Goniae australasiae (Orthoptera: Acrididae). *Genetics*. 65, 593-617.
- PERRY, P. E. JONES, G. H. 1974: Male and female meiosis in grasshoppers I. Stethophyma grossum. *Chromosoma* (Berl.) 47, 227-236.
- REES, H. 1952: Asynapsis and spontaneous chromosome breakage in Scilla *Heredity*, 6 89-97.
- REES, H. 1955: Genotypic control of chromosome behaviour in rye I. Inbred lines. *Heredity* 9, 93-116.
- REES, H. JONES, R. H. 1977: Chromosome Genetics. Edward Arnold (Publishers) Limited. London.

- REES H. NAYLOR, R. 1960: Developmental variation in chromosome behaviour. *Heredity* 15, 17-27.
- REES H. THOMPSON, J. D. 1958: Genotypic control of chromosome behaviour in rye.V. The distribution pattern of chiasmata between pollen mother cells. *Heredity*, 12, 101-111.
- RHOADES, M. M. 1969: Studies on the cytological basis of crossing-over. Replication and recombination of genetic material. W. J. Peacock & R. D. Brock eds. *Austral. Acad. Sci.* 229-241.
- RILEY, R. BENNET, M. D. 1971: Meiotic DNA synthesis. *Nature* 230, 183-185
- ROTH, T. P. PARCEMAN, L. G. 1971: Alteration of meiotic chromosomal pairing and synaptonemal complexes by cycloheximide. *Chromosoma (Berl.)* 35, 9-27.
- ROWLANDS, D. G. 1958: The control of chiasma frequency in Vicia faba L. *Chromosoma (Berl.)* 9, 176-184.
- SANTOS, J. L. GIRALDEZ, R. 1978: The effect of C-heterochromatin in chiasma termination in Chrothippus biguttulus (Acrididae Orthoptera). *Chromosoma (Berl.)* 70, 59-66.
- SAX, K. 1935: Variation in chiasma frequencies in Secale, Vicia and Tradescantia. *Cytologia*, 6. 289;293.
- SHAW, D. D. 1971: The supernumerary segment system of Stethophyma II. Heterochromatin polymorphism and chiasma variation. *Chromosoma (Berl.)* 34, 19-39.
- SOUTHERN, D. I. 1967 a: Species relationships in the genus Tulipa. *Chromosoma (Berl.)* 23, 80-94

- SOUTHERN, D. I. 1967 b: Chiasma distribution in Truxaline grasshoppers. *Chromosoma* (Berl.) 22, 164-191.
- STANLEY, R. G., LINSKENS, H. F. 1974: Pollen. Biology Biochemistry management. Springer-Verlag. Berlin Heidelberg. New York.
- STERN, C. 1931: Zytologisch-genetische Untersuchungen als Beweise für die Morgansche Theorie des Faktorenaustausches. *Bio. Zentralbl* 51, 547-589.
- STERN, H. HOTTA, Y. 1978: Regulatory mechanisms in meiotic crossingover. *Ann. Rev. Plan. Physiol.* 29, 415-436.
- SWANSON, C. P. 1942: Some considerations on the phenomenon of chiasma terminalisation. *Amer. Nat.* 76, 593-610.
- SYBENGA, J. 1958: Inbreeding effects in rye. *Zeits. Vererbungslehre* 89, 338-354.
- SYBENGA, J. 1960: Nonrandom distribution of chiasmata in rye, *Crotalaria* and coffee. *Chromosoma* (Berl.) 11, 441-455.
- SYBENGA, J. 1967: Interchromosome effects on chiasma frequencies in rye. *Genetica* 38, 171-183.
- SYBENGA, J. DE VRIES, J. M. 1972: Chromosome pairing and chiasma formation in poly-somic B-chromosomes in rye, *Secale cereale*. *Biol. Zentralbl.* 91, 181-192.
- SYBENGA, 1975: Meiotic configurations. Berlin -Heidelberg New York. Springer-Verlag.
- TAYLOR, J. H. 1965: Distribution of tritium-labelled DNA among chromosomes during meiosis I. Spermatogenesis in the grasshopper. *J. Cell.Biol.* 25, 57-67.
- TEASE, C. JONES, G.H. 1978: Analysis of exchanges in differentially stained Meiotic chromosomes of *Locusta migratoria* after Brd U-substitution and FPG Staining I Crossover exchanges in Monochiasmate bivalentes. *Chromosoma* (Berl.) 69, 163-173.

- VASIL, I. K. 1967: Physiology and cytology of anther development. *Biol. Rev.* 42, 327-373.
- VED BRAT, S. 1966: Genetic system in Allium II Sex differences in meiosis. *Chromosomes Today* 2, 31-40.
- VERMA, S. C. REES, H. 1974: Giemsa staining and the distribution of heterochromatin in rye chromosomes. *Heredity*, 32, 118-122.
- VOSA, C. G. 1972: Two track heredity differentiation of male and female meiosis in Tulbaghia. *Caryologia* 25, 275-281.
- WALLACE, B.M.N. JONES, C. H. 1978: Incomplete chromosome pairing and its relation to chiasma localisation in Stethophyma grossum spermatocytes. *Heredity* 40, 385-396.
- WALTERS, J. 1956: Spontaneous meiotic chromosome breakage in natural populations of Paeonia californica. *Amer. J. Bot.* 43, 342-354.
- WALTERS, M. S. 1952: Spontaneous chromosome breakage and typical chromosome movement in meiosis of the hybrid Bromus marginatus x B. pseudolaevipes. *Genetics*. 37, 8-25.
- WATSON, J. D. CALLAN, H. G. 1963: The form of bivalent chromosomes in newt oocytes at first metaphase of meiosis. *Quarterly J. of Microscopical Science* 104, 281-295.

- WHITE, M. J. D. 1936: Chiasma localisation in Mecostethus grosus.1. and Metrioptera brachyptera (L) Z. für Zellforsch M Mikr Ant. 24, 128-135.
- WHITE M.J. D. 1954: An extreme form of chiasma localisation in a species of Eryodema (Orthoptera Acrididae). Evolution 8, 350-352.
- WHITEHOUSE, H.L.K. 1963: A theory of crossing-over by means of hibrid deoxyribonucleic acid. Nature 199, 1034-1040.
- WHITEHOUSE, H.L.K. 1965: A theory of crossing-over and gene conversion involving hybrid DNA. Genetics Today 2, 87-98.
- YAMAMOTO, M. MIKLOS, G.L.G. 1978: Genetic studies on heterochromatin in Drosophila melanogaster and their implications for the functions of satellite DNA. Chromosoma (Berl.) 66, 71-99.
- ZICKLER, D. 1977:Development of the synaptonemal complex and the "recombination nodules" during meiotic prophase in the seven bivalents of the fungus Sordaria macrospora Auersw. Chromosoma (Berl.) 61, 239-316.

